annales de l'amélioration des plantes

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE
I. N. R. A.
Centre de Recherches de RENNES
STATION D'AMÉLIORATION DES PLANTES
B.P. 29 - 35650 LE RHEU
Tél. : (99) 00.71.92

Trimestriel
1976
Vol. 26 . N° 1

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

Reproduction, même partielle, interdite sans autorisation des auteurs
et de l'Institut national de la Recherche agronomique
à l'exception des résumés

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (1), 1-13.

SUR LA SIGNIFICATION DE L'APTITUDE GÉNÉRALE A LA COMBINAISON

A. GALLAIS

Station d'Amélioration des Plantes fourragères, I. N. R. A., 86600 Lusignan

RÉSUMÉ

Le sens statistique de l'aptitude générale à la combinaison est précisé, en situation à effets fixés et en situation à effets aléatoires. La signification génétique est discutée au niveau d'une population diploïde. Une explication est proposée pour la coexistence observée d'une forte variance aptitude générale à la combinaison (par rapport à la variance d'aptitude spécifique) et d'un fort phénomène d'hétérosis. Le problème de la relation de l'aptitude générale à la combinaison avec la valeur en autofécondation est aussi discuté.

INTRODUCTION

La notion d'*aptitude générale à la combinaison* (AGC) a été très tôt introduite par les sélectionneurs de Maïs pour caractériser la performance moyenne d'une lignée en combinaison hybride, par rapport à un groupe de lignées ou en top-cross avec des hybrides simples, trois voies ou doubles (voir par exemple, KIESSELBACH, 1922). SPRAGUE (1942), à partir du croisement diallèle a redéfini cette notion et a de plus introduit le terme d'*aptitude spécifique à la combinaison* (ASC) pour caractériser la déviation entre la valeur observée d'un hybride simple et sa valeur attendue sur la base de l'aptitude générale à la combinaison des lignées parentes. Ces notions ont depuis été étendues au cas de toute unité génotypique (clone, famille, population). Nous ne discuterons ici que le cas des aptitudes à la combinaison entre individus ou entre lignées à différents niveaux de consanguinité.

Historiquement, ces notions ont été définies pour un groupe de parents donné, entrant dans le plan de croisement utilisé, c'est-à-dire pour une situation à *effets fixés* (EINSENHART, 1947). Mais le développement de la théorie de la sélection a conduit à définir ces notions au niveau d'une population panmictique ou pour une popula-

tion de lignées dérivant sans sélection de cette population panmictique. L'AGC d'un génotype est alors représentée par la performance moyenne de ce génotype en croisement avec tous les autres génotypes de la population. Si le sélectionneur recherche des informations sur les paramètres de la population, AGC ou ASC, son étude ne peut plus se situer au niveau des moyennes mais au niveau des variances, σ^2_g et σ^2_s, des effets définis pour la population. Il est dans une situation à *effets aléatoires* (EISENHART, 1947).

Quelle que soit la situation, effets fixés ou effets aléatoires, pour estimer l'importance de l'AGC et de l'ASC, trois types de plans de croisements peuvent être utilisés :

— *Le plan hiérarchisé* : « design I » de Caroline du Nord (COMSTOCK, 1952). Dans ce plan chacune des plantes prises comme mâle (ou femelle) est croisée avec un échantillon limité de plantes femelles (mâles), différent pour chaque plante mâle (femelle). C'est un schéma fréquemment utilisé en sélection animale. Si les partenaires des plantes mâles (ou femelle) ne sont pas identifiés, ce schéma revient à un plan top-cross et il ne permet plus que la mesure de l'AGC ;

— *Le plan factoriel* : « design II » de Caroline du Nord. Dans ce plan, il y a un échantillon de plantes prises comme mâles et un échantillon différent de plantes prises comme femelles et chaque mâle sera croisé avec cet échantillon de plantes femelles. Ce schéma s'intègre très bien dans le cadre d'une sélection à testeur constant. Celui-ci peut être constitué par un groupe de lignées (ou hybrides) et l'on étudie l'aptitude à la combinaison du matériel par rapport à ce groupe ;

— *Le plan diallèle* : Dans ce plan l'échantillon de plantes mâles et celui des plantes femelles sont identiques et tous les croisements possibles 2 à 2 sont réalisés. Des plans diallèles incomplets où toutes les combinaisons ne sont pas réalisées, peuvent aussi être utilisés (diallèle partiel, KEMPTHORNE et CURNOW, 1961).

Nous allons préciser dans ce qui suit les significations statistique et génétique des aptitudes à la combinaison, en considérant plus particulièrement le cas de l'AGC.

SENS STATISTIQUE DES APTITUDES A LA COMBINAISON

Situation à effets fixés

Chaque expérience est comparable à une expérience à 2 facteurs contrôlés : un facteur mâle à m niveaux, le nombre de mâles, et un facteur femelle à f niveaux (hiérarchisé au facteur mâle dans le plan I et $f = m$ dans le plan diallèle). Dans l'analyse statistique de ces expériences, le sélectionneur a introduit tout naturellement :

— 2 effets principaux : un effet mâle ($g_{i♂}$) et un effet femelle ($g_{j♀}$)

— et un effet d'interaction mâle × femelle $s_{i♀\,j♂}$ (et $s_{j♀\,i♂}$ si un même génotype peut être utilisé à la fois comme mâle et comme femelle) ; soit le modèle :

$$y_{i♀\,j♂} = m + g_{i♀} + g_{j♂} + s_{i♀\,j♂}$$

les effets g et s étant centrés par rapport à la moyenne m de tous les croisements. Pour un génotype donné, avec les 2 sens de croisement, dans le cas des plans fac-

toriel et diallèle, l'*AGC est alors définie comme la moyenne de son effet mâle et de son effet femelle* :

$$g_i = 1/2(g_{i♂} + g_{i♀})$$

et de même l'ASC (s_{ij}), entre 2 génotypes i et j sera :

$$s_{ij} = 1/2(s_{i♀\,j♂} + s_{i♂\,j♀})$$

En l'absence de différences réciproques (effets maternels généraux ou spécifiques) l'AGC représente donc *un effet principal* et l'ASC l'interaction, au sens statistique du terme, entre les apports géniques des 2 parents. L'AGC est quelquefois définie comme la *partie prévisible* de la performance d'un croisement, et l'ASC comme la *partie non prévisible*. Cependant, par analogie avec les expériences à 2 facteurs (WRIGHT, 1971), on peut chercher à prévoir une partie de l'ASC à partir de l'AGC par un modèle du type :

$$\widehat{y_{ij}} = m + \widehat{g_i} + \widehat{g_j} + k\widehat{g_i}\widehat{g_j}$$

et dans le cas où il y a des effets cytoplasmiques, avec des interactions gène × cytoplasme, par analogie aux interactions génotype × milieu :

$$y_{i♀\,j♂} = m + \widehat{g_{i♂}} + \widehat{g_{j♂}} + b_j\widehat{g_{i♀}}$$

Le même modèle peut d'ailleurs être utilisé en l'absence d'effets maternels, mais il sera sans doute moins efficace.

La définition de l'AGC comme un effet principal fait que différents génotypes peuvent réaliser une même AGC de façon tout à fait différente : c'est-à-dire avec une faible ou une forte variance entre croisements avec un parent commun. Sans interprétation génétique il est évident que le génotype idéal est celui qui a une *bonne AGC* avec une *faible variance entre croisements*. Le test top-cross ne permet pas de repérer ce génotype.

Cas d'une situation à effets aléatoires

Dans ce cas, on ne s'intéresse plus aux effets (moyennes) mais à leur *variance*. Pour cela, il se pose alors un problème d'échantillonnage : les parents utilisés doivent être représentatifs et provenir d'une même population où les effets théoriques (AGC et ASC) ont une distribution normale et des variances à estimer (σ^2_g et σ^2_s). Entre les effets définis et estimés dans la situation à effets fixés et ces effets théoriques il existe d'ailleurs une relation :

$$g_i = \widehat{g_i} + \zeta_i$$

où ζ_i représente une déviation due à l'expérience, c'est-à-dire à l'échantillon ; dans l'analyse diallèle, si celui-ci était illimité les 2 valeurs $\widehat{g_i}$ et g_i coïncideraient.

Au niveau de la population, il faut remarquer que l'AGC est définie de telle sorte que la variance d'ASC soit minimum (théorie des moindres carrés). Il se trouve que cette définition statistique de l'AGC correspond à la moyenne en combinaison d'un génotype avec tous les autres génotypes de la population.

SIGNIFICATION GÉNÉTIQUE DE L'AGC DANS UNE POPULATION DIPLOÏDE

A travers l'AGC définie comme effet principal, le sélectionneur mesure des effets génétiques, et des effets cytoplasmiques. Pour simplifier la représentation génétique de l'AGC, nous supposerons l'absence d'effets cytoplasmiques et l'absence de sélection gamétique, donc ($g_i♀ = g_i♂$).

L'AGC d'un individu représente alors la valeur de ses gamètes en combinaison avec les gamètes des autres individus. Illustrons cela dans le cas d'un locus, puis pour 2 loci en raisonnant au niveau d'une *population panmictique* en équilibre, ou d'une population de lignées homozygotes issues sans sélection de la population panmictique.

AGC au niveau d'un locus

Pour simplifier plaçons-nous dans le cas de biallélisme avec les gènes allèles B et b de fréquence p et q. Pour le locus considéré il n'y a que 3 génotypes possibles BB, Bb, bb de fréquences respectives p^2, $2pq$, q^2 et de valeurs $c + a$, $c + h$, $c - a$. Il est alors possible de calculer leur performance moyenne en combinaison hybride avec tous les génotypes ; en centrant les valeurs sur la moyenne de la population, il résulte :

$$g_{BB} = q[a - (p - q)h] = q\,\alpha = \alpha_B \qquad \text{avec } \alpha = a - (p - q)\,h$$
$$g_{Bb} = 1/2(q - p)\,\alpha = 1/2(\alpha_B + \alpha_b)$$
$$g_{bb} = -p\,\alpha = \alpha_b$$

Ces expressions montrent comment l'*AGC est dépendante de la fréquence des gènes dans la population*. Dans le cas où les génotypes considérés sont pollinisés par une autre population (testeur) que celle à laquelle ils appartiennent, les expressions de l'AGC sont toujours analogues avec $\alpha = a - (p_t - q_t)h$, $p_t = 1 - q_t$ représentant la fréquence du gène favorable chez le testeur. *L'AGC n'est pas une propriété du génotype* mais du complexe génotype-testeur. Elle le devient toutefois si $h = 0$, c'est-à-dire sans dominance. Nous ne considérons ici que le cas où le testeur est la population des génotypes étudiés.

L'AGC des 2 génotypes homozygotes BB, bb représente aussi ce que l'on peut appeler respectivement l'*AGC du gène* B soit α_B et celle du gène b soit α_b. C'est l'effet additif du gène B ou du gène b. D'une façon générale l'AGC d'un génotype B_iB_j se relie directement aux effets additifs des gènes B_i, B_j :

$$g_{B_iB_j} = 1/2(\alpha_i + \alpha_j) = 1/2\ \mathrm{A}$$

c'est la valeur en combinaison des gamètes B_i et B_j du génotype B_iB_j et la valeur y_{ij} du génotype B_iB_j résultant du croisement $B_iB_i \times B_jB_j$ peut être prévue par :

$$\widehat{y_{ij}} = \mu + \alpha_i + \alpha_j$$

la différence $y_{ij} - \widehat{y_{ij}} = \beta_{ij}$ représente alors l'ASC entre les 2 lignées homozygotes. On appelle aussi cette quantité le résidu de *dominance* : c'est en fait l'équivalent d'une

interaction au sens statistique du terme. Un tel résidu existe aussi au niveau des génotypes homozygotes. Il est dangereux de confondre cette *dominance statistique* avec la *dominance biologique* mesurée par la différence entre l'hétérozygote et la moyenne des 2 homozygotes. Le tableau 1 montre les valeurs prévues et les déviations dues à la dominance pour 3 types de croisements entre lignées homozygotes :

TABLEAU 1

Comparaison des valeurs prévues et des valeurs observées de croisements entre lignées homozygotes issues sans sélection d'une population panmictique en équilibre

Croisement	Génotype	Valeur observée	Valeur prévue avec AGC	ASC = dominance
$BB \times BB$	BB	$c + a$	$c + a + 2\,q^2h$	$-2\,q^2h$
$BB \times bb$	Bb	$c + h$	$c + h - 2\,pqh$	$2\,pqh$
$bb \times bb$	bb	$c - a$	$c - a + 2\,p^2h$	$-2\,p^2h$

La variance de l'AGC intrapopulation se relie directement à la variance des effets additifs σ^2_A (KEMPTHORNE, 1957 ; FALCONER, 1961) :

$$\sigma^2_g = \frac{1 + F}{4}\,\sigma^2_A$$

F étant le coefficient de consanguinité des parents et $\sigma^2_A = 2\,pq\{a - (p - q)h\}^2$. De même $\sigma^2_s = \frac{1 + F}{2}\,\sigma^2_D$ avec $\sigma^2_D = (2\,pqh)^2$ variance due à la dominance. Dans le cas de parents homozygotes F = 1, la variance d'ASC est égale à la variance de la dominance.

Aptitudes à la combinaison pour plusieurs loci

GUY (1972) a proposé une approche directe des aptitudes à la combinaison pour plusieurs loci, en l'absence d'épistasie, en donnant la même importance à chaque locus. Nous retiendrons ici une approche qui permet de ne pas faire d'hypothèses sur la fréquence des gènes et leurs effets.

Étudier la valeur en combinaison d'un génotype revient à étudier la valeur en combinaison des gamètes qu'il peut donner. Ainsi pour un génotype $B_iB_jC_kC_l$, dans le cas d'indépendance (pour simplifier) :

$$g_{ijkl} = 1/4(\gamma_{ik} + \gamma_{il} + \gamma_{jk} + \gamma_{jl})$$

où γ_{ik} représente la valeur en combinaison de l'association B_iC_k transmise par les gamètes. L'effet de cette association est le résultat des effets additifs des gènes B_i et C_k et de leur interaction appelée encore *épistasie* du type additif × additif (ζ).

$$\gamma_{ik} = \alpha_i + \alpha_k + \zeta_{ik}$$

On peut alors écrire :

$$g_{ijkl} = 1/2\ A + 1/4\ AA$$

et d'une façon plus générale pour n loci, l'AGC d'un génotype I peut s'écrire :

$$g_I = 1/2\ A + \sum_{k=1}^{k=n} (1/2)^k\ (A)^k$$

A représentant la somme des effets additifs de tous les gènes apportés par le génotype I et $(A)^k$ la somme des interactions épistatiques entre k gènes non allèles, n étant le nombre maximum de loci dans une interaction. L'AGC chez les diploïdes ne contient donc que des effets additifs et des interactions entre gènes non allèles. En présence d'épistasie limitée aux paires de loci, l'ASC comprendra des effets de dominance et des effets d'épistasie additif × additif (interaction de 2 gènes non allèles issus de parents différents), additif × dominance (interaction entre 3 gènes dont 2 allèles) et dominance × dominance (interaction entre 4 gènes).

Par sommation sur l'ensemble des loci concernés, on peut écrire pour les variances (KEMPTHORNE, 1957).

$$\sigma_g = \frac{1+F}{4}\,\sigma^2_A + \left(\frac{1+F}{4}\right)^2 \sigma^2_{AA} + \cdots$$

et $$2\sigma + \sigma^2_s = \frac{1+F}{2}\,\sigma^2_A + \left(\frac{1+F}{2}\right)^2 \sigma^2_D + \left(\frac{1+F}{2}\right)^2 \sigma^2_{AA} + \left(\frac{1+F}{2}\right)^3 \sigma^2_{AD} + \left(\frac{1+F}{2}\right)^4 \sigma^2_{DD}$$

Il n'y a donc qu'en l'absence d'épistasie que l'analyse des plans de croisements cités permettra d'estimer les composantes de la variance génétique. La présence d'épistasie biaisera ces estimations.

RELATION AVEC LE PHÉNOMÈNE D'HÉTÉROSIS

Une première remarque doit être faite : au niveau de la population la définition de l'AGC ne fait intervenir que des croisements entre individus non apparentés. Dans une population panmictique de grande taille la probabilité de reproduction entre apparentés peut être considérée comme nulle. Pour avoir un échantillon représentatif de cette population dans un plan de croisement du type diallèle, afin d'estimer les variances d'aptitudes à la combinaison sans biais, il faut éliminer le croisement d'un individu avec lui-même (autofécondation). Ce qui est étudié c'est la variabilité des croisements.

Il peut exister des situations où l'analyse conduit à dire que la variance d'AGC est beaucoup plus importante que la variance d'ASC malgré un phénomène important d'hétérosis (jugé au niveau des moyennes). En d'autres termes de telles situations signifient qu'*hétérosis* et *additivité* peuvent coexister, ce qui peut pourtant sembler paradoxal. Pourtant c'est bien le cas chez de nombreuses plantes allogames (Maïs, MOLL, 1967, plantes fourragères, BREESE, 1972).

En l'absence de dominance et sans épistasie il ne peut pas y avoir, de dépression due à la consanguinité. Cependant le problème posé est de savoir si la dominance

peut coexister avec une forte variance additive. Il faut déjà remarquer que l'étude des expressions des variances d'additivité et de dominance à un locus montre que pour de faibles fréquences de l'allèle favorable, la variance d'additivité sera toujours plus importante que la variance de dominance (FALCONER, 1961). Dans le cas de biallélisme, avec dominance complète (voir fig. 1) même avec $p = q = 1/2$, la d'additivité est encore 2 fois plus important que la variance de dominance.

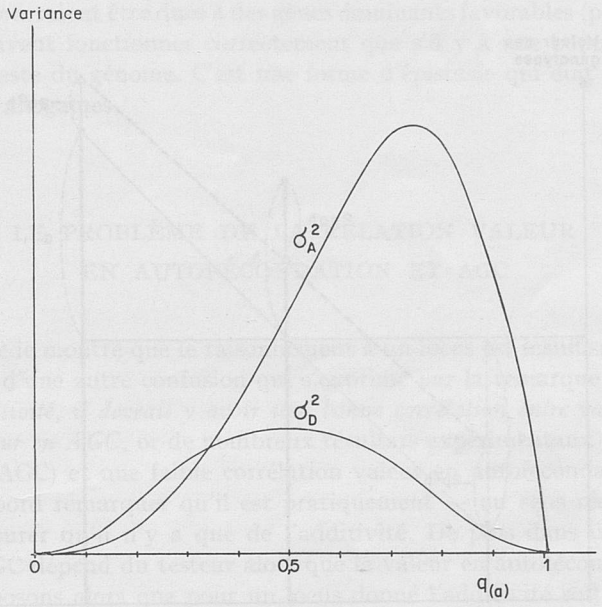


FIG. 1. — *Importance des composantes de la variance génétique à un locus* (σ^2_A et σ^2_D) *dans le cas de biallélisme* ($q_{(a)}$ étant la fréquence de l'allèle récessif)

La définition même des effets génétiques maximise les effets d'additivité et corrélativement minimise les effets d'interactions (dominance, épistasie). En effet, soit le modèle de décomposition de la valeur génotypique y_{ij} pour un locus :

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \alpha_j + \beta_{ij}$$

les effets additifs, *au niveau de la population*, sont définis de telle sorte qu'ils minimisent le résidu de dominance. La définition de l'effet additif d'un gène comme étant sa valeur moyenne en combinaison avec tous les autres gènes de la population (allèles et non allèles pour tenir compte de l'épistasie) correspond à la solution des moindres carrés qui minimise les variances d'interaction entre gènes, dominance et épistasie (KEMPTHORNE, 1954). Nous avons vu qu'il en est d'ailleurs de même pour la définition de l'AGC au niveau de la population : elle minimise la variance de l'ASC.

Dans le cas de biallélisme avec un locus, une représentation simple peut être donnée de ce fait. L'effet additif d'un gène est défini par la régression de la valeur des génotypes sur le nombre de gènes dominants présents dans le génotype. Par la méthode des moindres carrés on minimise la dispersion autour de la droite. La

figure 2 illustre la situation, elle montre en particulier qu'avec une dominance positive, ce qui semble le plus fréquent, la *dominance statistique* au niveau de l'hétérozygote est inférieure à la *dominance biologique* mesurée par la différence entre l'hétérozygote et la moyenne des homozygotes. Une partie de l'état apparemment paradoxal précédent vient de la confusion des deux notions qui se situent à des plans différents. Si $p = q = 1/2$ la dominance statistique chez l'hétérozygote est égale à la moitié de la dominance biologique.

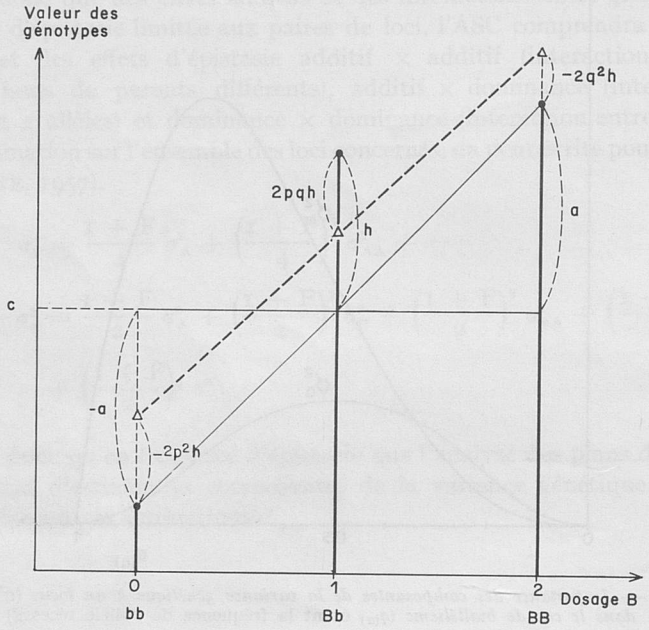


FIG. 2. — *Illustration de la dominance statistique : différence entre valeurs observées* (●) *et valeurs prévues* (△) *des génotypes. Elle existe donc aussi au niveau homozygote. Chez l'hétérozygote on aura toujours dominance statistique* (2 pqh) < *dominance biologique* (h).

C'est donc la définition même des paramètres qui fait qu'en modèle aléatoire on met plus facilement en évidence l'AGC que l'ASC. Il faudrait une très forte variance d'ASC pour que celle-ci apparaisse : comme elle augmente avec le niveau de consanguinité des parents, elle sera plus facilement mise en évidence avec des lignées fixées qu'avec des génotypes non consanguins.

Cependant le raisonnement à un seul locus qui précède n'est pas suffisant pour expliquer les résultats expérimentaux montrant l'ampleur de la dépression due à la consanguinité et la relative importance de la variance d'AGC. Biologiquement il est possible de concevoir qu'il y ait avantage systématique de l'état hétérozygote (effet moyen de la structure) sans pour cela qu'il y ait une forte variance d'ASC. Une des explications les plus probables de la vigueur hybride est la complémentation des apports gamétiques des parents par des gènes dominants favorables. Dans une population, la probabilité de *masquage en croisement de récessifs défavorables* est très forte, par contre en autofécondation les récessifs sont extériorisés, et leurs effets cumulatifs expliquent la dépression due à la consanguinité ; il peut d'ailleurs suffire

d'un faible nombre de récessifs à effets très forts (sublétaux, déficients pour des fonctions fondamentales par exemple déficients chlorophylliens). L'amplitude de variation des croisements peut alors être nettement inférieure à la différence entre croisement et autofécondation. La théorie des linkats de DEMARLY (1972) peut très bien s'intégrer dans le cadre de cette hypothèse. Le fait d'observer au niveau des croisements surtout une forte variance d'AGC peut alors avoir une explication complémentaire à celle donnée précédemment. Il suffit de concevoir que les différences en AGC pourraient être dues à des gènes dominants favorables (peu nombreux), mais qui ne peuvent fonctionner correctement que s'il y a une bonne complémentation dans le reste du génome. C'est une forme d'épistasie qui doit être fréquente chez les plantes allogames.

LE PROBLÈME DE LA RELATION VALEUR EN AUTOFÉCONDATION ET AGC

Ce qui précède montre que le raisonnement à un locus est insuffisant. Il est sans doute à la base d'une autre confusion qui s'exprime par la remarque suivante « *s'il y a surtout additivité, il devrait y avoir une bonne corrélation entre valeur en autofécondation et valeur en AGC*, or de nombreux résultats expérimentaux montrent qu'il y a additivité (AGC) et une faible corrélation valeur en autofécondation AGC ».

Il faut d'abord remarquer qu'il est pratiquement — au sens réel du terme — impossible d'assurer qu'il n'y a que de l'additivité. De plus dans une situation à effets fixés, l'AGC dépend du testeur alors que la valeur en autofécondation est une constante. Supposons alors que pour un locus donné l'additivité soit stricte (dominance biologique $h = 0$) ; alors, il est évident qu'en l'absence de tout effet de milieu, la corrélation valeur en AGC — valeur en autofécondation serait de 1 (tabl. 2).

TABLEAU 2

Expressions des AGC intra-population et des valeurs en autofécondation dans le cas d'absence de dominance ($h = 0$)

Génotype	Valeur AGC centrée	Valeur en autofécondation	
		non centrée	centrée
BB	qa	$c + a$	$2\,aq$
Bb	$1/2\,(q - p)a$	c	$(q - p)a$
bb	$-\,pa$	$c - a$	$-\,2\,pa$

Avec les hypothèses faites par GRIFFING (1950), reprises par ECOCHARD et HUET (1961) et par GUY (1972) (à savoir absence d'épistasie, gènes distribués de façon indépendante entre les parents), on peut montrer que la valeur d'un croisement,

y_{ij} entre 2 lignées homozygotes de valeur V_i et V_j peut être exactement prévue par un modèle du type :

$$y_{ij} = a + 1/2(V_i + V_j) + bV_iV_j$$

et ceci quel que soit le degré de dominance. L'AGC d'une lignée tendrait alors à être reliée linéairement à la valeur en autofécondation (voir annexe). Or ce n'est pas le cas et les hypothèses principales à mettre en cause dans ce modèle sont sans doute celles de distribution au hasard des gènes entre parents et d'absence d'épistasie.

En reprenant l'hypothèse précédente sur l'explication de l'hétérosis, on comprend que la valeur en autofécondation (ou valeur de lignées) va être déterminée par le nombre de loci portant des gènes récessifs et par l'importance de l'effet défavorable de ceux-ci (par épistasie), alors qu'au niveau des croisements ceux-ci ne vont pratiquement pas participer à l'explication de la variabilité. La variabilité en AGC dépendra de l'*aptitude d'un génotype à bien complémenter ses partenaires*, (nombre de loci avec des gènes dominants favorables) et aussi de quelques gènes dominants à effets forts mais ne pouvant s'extérioriser qu'avec une bonne complémentation dans le reste du génome. Chez le Maïs de nombreux résultats semblent en faveur des hypothèses formulées. La corrélation valeur intrinsèque des lignées et valeur en AGC est en général très faible pour le premier cycle de sélection. Elle devient beaucoup plus forte pour les cycles suivants, au cours desquels se réalise une certaine *fixation de l'hétérosis* (le niveau des lignées s'améliore). La conséquence pour le sélectionneur est qu'il faut choisir des schémas faisant au maximum appel à la *recombinaison* (sélection récurrente) en évitant de sélectionner sur la valeur en consanguinité au cours du premier cycle de sélection. Par la suite le critère valeur en autofécondation peut être tout aussi efficace que l'AGC et surtout plus facile à utiliser. Dans le cas de variétés synthétiques nous avons montré qu'il faut utiliser les deux critères (GALLAIS, 1974).

Dans l'analyse diallèle, il ne faut donc pas exclure les informations apportées par les autofécondations. Pour estimer les variances d'AGC et d'ASC, il faut éliminer les autofécondations, mais dans une situation à effets fixés la valeur en autofécondation peut être un élément d'explication de l'AGC. GARDNER et EBERHART (1966) ont proposé un modèle d'analyse, en décomposant l'AGC sous la forme :

$$g_i = 1/2\ a_i + h_i$$

où a_i représente la valeur en autofécondation du génotype i et h_i la part de l'AGC due au croisement. Un tel modèle a aussi été développé par GALLAIS (1970) pour les analyses d'expériences de compétition diallèle. Une autre utilisation possible de la valeur en autofécondation est au niveau de la prévision d'une partie de l'ASC par des modèles du type :

$$y_{ij} = m_i + b_ia_j$$

équivalent d'une régression à parent constant mais avec analyse simultanée de tous les croisements,

ou

$$y_{ij} = b_0 + b_1a_i + b_2a_j + b_3a_ia_j$$

De tels modèles ont été utilisés avec succès sur les plantes autogames, là où les gènes récessifs très défavorables ont été éliminés par la sélection naturelle (voir GRIFFING, 1950, HUET et ECOCHARD, 1961 ; KEMPTHORNE, 1960).

CONCLUSIONS

Nous avons voulu montrer les risques qu'il y a à donner une *signification biologique* à des paramètres qui n'ont qu'une *signification statistique*. C'est en particulier le cas de la dominance et de l'additivité. En précisant le sens de ces notions, il est apparu qu'une forte additivité — au sens statistique — peut coexister avec un phénomène d'hétérosis qui est une notion biologique. Dans ce sens, constatant une forte *additivité* ou une forte AGC il n'est pas toujours possible de conclure à une *possibilité de fixation* : l'additivité mise en évidence au niveau de croisements peut coexister avec la superdominance (notion biologique). Il faut conserver à l'AGC son sens statistique : une forte AGC signifie que l'on peut prévoir la performance des croisements à partir de l'AGC des parents. Tous les concepts de génétique quantitative appliquée à l'amélioration des plantes sont des concepts statistiques. La théorie de la sélection vise à donner au sélectionneur des règles d'*action*, basées sur la *prévision* des performances de certaines familles. Elle cherche à définir les règles de manipulation des génotypes pour provoquer et détecter les associations de gènes les plus efficaces. Dans la mesure où les caractères étudiés sont contrôlés par un assez grand nombre de gènes cette attitude se justifiera toujours, même si nos connaissances sur les mécanismes d'action des gènes déplacent le niveau d'appréciation des phénotypes.

Reçu pour publication en décembre 1974.

REMERCIEMENTS

Nous exprimons nos remerciements à M. GILLET, Station d'Amélioration des Plantes fourragères de Lusignan, qui nous a beaucoup aidé au cours de discussions à clarifier certains éléments de cette mise au point.

SUMMARY

ON THE MEANING OF THE GENERAL COMBINING ABILITY

The statistical meaning of general combining ability is carefully stated for fixed effects and for random effects situations. The genetic significance is discussed for a diploid population. An explanation is proposed for the existence together of high general combining ability variance (compared with specific) and a marked manifestation of heterosis. The problem of the relationship of general combining ability with value under self-fertilisation is discussed.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BREESE E. L., HAYWARD M. D., 1972. The genetic basis of present breeding methods in forage crops. *Euphytica*, **21**, 324-336.

COMSTOCK R. E., ROBINSON H. F., 1952. Estimation of average dominance of genes. In GOWEN J. W. (Ed.) *Heterosis*, p. 494-516. Ames. Iowa State College Press.

DEMARLY Y., 1972. Commentaires sur les aptitudes à la combinaison. *Ann. Amélior. Plantes*, **22**, 187-200.

ÉCOCHART R., HUET J., 1961. Contribution à l'étude de la génétique quantitative chez une plante autogame : le Blé. *Ann. Amélior. Plantes*, **11**, 25-59.

EISENHART C., 1947. The assumptions underlying the analysis of variance. *Biometrics*, **3**, 1-21.

FALCONER D. S., 1961. *Introduction to quantitative genetics*. Oliver and Boyd. London, 365 p.

GALLAIS A., 1970. Modèle pour l'analyse des relations d'associations binaires. *Biométrie-Praximétrie*, **11**, 51-80.

GALLAIS A., 1974. Prévision de la vigueur et sélection des parents d'une variété synthétique. *Ann. Amélior. Plantes*, **25** (3).

GARDNER C. O., EBERHART S. A., 1966. Analysis and interpretation of the variety cross diallel and related populations. *Biometrics*, **22**, 439-452.

GRIFFING B., 1950. Analysis of quantitative generation by constant parent regression and related technics. *Genetics*, **35**, 303-321.

GUY P., 1972. Observation sur l'aptitude à la combinaison chez *Medicago sativa* L. *Quaderni de Sperimentazione*, **3**, 23-40.

KEMPTHORNE O., 1954. The correlation between relatives in a random mating population. *Proc. Royal Soc. B*, **143**, 103-113.

KEMPTHORNE O., 1957. *An introduction to genetic statistics*. J. Wiley and Sons N. Y., 545 p.

KEMPTHORNE O., 1960. Biometrical relations between relatives and selection theory. In *Biometrical genetics*. Pergamon Press, p. 12-23.

KEMPTHORNE O., CURNOW R. W., 1961. The partial diallel cross. *Biometrics*, **17**, 229-250.

KIESSELBACH T. A., 1922. Corn investigations. *Nebr. agr. exp. Sta. Res. Bull.*, **20**, 151.

MOLL R. M., ROBINSON H. F., 1967. Quantitative genetic investigation of yield of maize. *Der Züchter* **37**, 192-199.

SPRAGUE G. F., TATUM L. A., 1942. General versus specific combining ability in single crosses of corn *J. Amer. Soc. Agron.*, **34**, 923-32.

WRIGHT A. J., 1971. The analysis and prediction of some two factors interaction in grass breeding. *J. agric. Sci. Camb.*, **76**, 301-306.

ANNEXE

Relation entre valeur en autofécondation et AGC avec les hypothèses de GRIFFING (1950), ECOCHARD et HUET (1961) et GUY (1972), dans le cas de lignées homozygotes.

Soit V_i et V_j les valeurs des lignées i et j. Nous voulons prévoir la performance du croisement i et j. Les hypothèses sont les suivantes : biallélisme, distribution au hasard des gènes entre les parents, mêmes valeurs pour les paramètres génotypiques à chacun des n loci intervenant dans le caractère considéré. Soit p_i et p_j la proportion de gènes dominants respectivement dans les lignées i et j ($q_i = 1 - p_i$, $q_j = 1 - p_j$), et pour les effets génétiques à un locus s :

$$B_sB_s = c + a$$
$$B_sb_s = c + h$$
$$b_sb_s = c - a$$

La valeur des lignées peut alors s'écrire :

$$V_i = np_i(c + a) + nq_i(c - a) = nc + (2p_i - 1)na$$
$$V_j = np_j(c + a) + nq_j(c - a) = nc + (2p_j - 1)na$$

La valeur du croisement y_{ij} peut s'écrire :

$$y_{ij} = np_ip_j(c + a) + (np_iq_j + nq_ip_j)(c + h) + nq_ip_j(c - a)$$

or

$$p_i = \frac{V_i}{2na} - \frac{(c - a)}{(2a)}; \qquad p_j = \frac{V_j}{2na} - \frac{(c - a)}{(2a)}$$

$$p_ip_j = \frac{V_iV_j}{4n^2a^2} - \frac{c - a}{2a}\frac{1}{2na}(V_i + V_j) + \left[\frac{c - a}{2a}\right]^2$$

d'où n, c et a étant des constantes pour le caractère considéré.

$$y_{ij} = b_0 + b_1(V_i + V_j) + b_2V_iV_j$$

Au niveau d'une population de lignées, la valeur attendue de la lignée i en combinaison hybride, c'est-à-dire son AGC aura alors pour expression :

$$y_{i.} = b_0 + b_1(V_i + V_0) + b_2V_iV_0 = b_0 + b_1'V_i \qquad (V_0 = \text{moyenne des } V_i)$$

C'est-à-dire qu'avec les hypothèses trop simplificatrices faites, (essentiellement distribution au hasard des gènes entre parents) la valeur attendue de l'AGC d'une lignée serait une fonction linéaire de sa valeur en autofécondation. Toutefois, dans une analyse diallèle, l'*estimation* $\widehat{g_i}$ de l'AGC, s'écrira sous la forme :

$$\widehat{g_i} = \left[b_1 + \frac{p}{p - 2}b_2V_0\right](V_i - V_0) + \frac{b_0}{p - 2}\left[\frac{1}{p}\sum_i V_i^2 - V_i^2\right]$$

$\widehat{g_i}$ n'est pas alors une fonction linéaire de la valeur de la lignée, mais la déviation à la linéarité sera faible pour un nombre assez élevé de parents. Cependant cette approche, combinée au fait qu'en l'absence de dominance on a aussi une relation linéaire, est une justification d'un modèle un peu plus général que celui proposé par GARDNER et EBERHART (1966) que l'on peut écrire :

$$g_i = a + bV_i + h_i'$$

h_i' représentant l'AGC non expliquée par la valeur en autofécondation.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (1), 15-34.

CONTRIBUTION A L'ANALYSE DES SYSTÈMES GÉNÉTIQUES CHEZ LE COTONNIER (1)

P. L. LEFORT

Station de Recherches de Viticulture,
Centre de Recherches de Bordeaux, I. N. R. A.,
Pont-de-la-Maye, 33140 Villenave d'Ornon

RÉSUMÉ

La recherche de marqueurs pour le gène *ms3* de stérilité mâle partielle, a permis d'établir sur le bras court du chromosome D-16 de *Gossypium hirsutum*, la carte d'une séquence de quatre gènes liés. Après quelques expériences préliminaires destinées à préciser les modalités d'expression de la stérilité mâle, on entreprend l'étude de la séquence par l'observation des ségrégations obtenues dans des descendances par autofécondation, et par rétrocroisement de l'hétérozygote en couplage pour les quatre locus.

Trois points principaux se dégagent des résultats : la haute fréquence de recombinaison trouvée, l'éventualité de l'existence d'un point privilégié de cassure et d'échange et celle d'une différence, sur un des segments du chromosome, entre l'intensité de recombinaison au cours des deux processus de gamétogenèse mâle et femelle. Ces éléments sont discutés et interprétés en fonction de la notion, chez les végétaux vascularisés, du contrôle génétique de la recombinaison et de la théorie des linkats. D'un point de vue pratique, les résultats permettent d'intégrer trois éléments nouveaux aux schémas d'amélioration de l'espèce *G. hirsutum* en Afrique de l'Ouest : l'évolution du système de reproduction vers une autogamie renforcée, l'intensité élevée des phénomènes de recombinaison, la présomption d'existence de linkats.

INTRODUCTION

En amélioration des plantes, la possibilité d'établir des schémas de sélection rationnels et efficaces dépend, en premier lieu, des éléments d'information dont on dispose sur le système génétique de l'espèce ou de la population considérée et sur le rôle de la recombinaison dans la production de génotypes nouveaux.

(1) Le présent article est le résumé d'un travail effectué à la Station de Recherches de l'I. R. C. T. (Institut de Recherches du Coton et des Textiles) de Bouaké en Côte d'Ivoire.

Un système génétique est défini comme la façon dont les gènes sont organisés chez l'individu et transmis dans la descendance. Ses éléments (nombre et structure des chromosomes, degré de ploïdie, fréquence de mutation et de recombinaison, mode de reproduction, etc.) sont eux-mêmes contrôlés par le génotype et soumis à la sélection naturelle, de telle sorte qu'un tel système n'est jamais stable.

Au sein de la grande variation inter- et même intraspécifique des composantes des systèmes génétiques, un élément apparaît comme universel, depuis les virus les plus simples jusqu'aux organismes pluricellulaires les plus complexes : la recombinaison. Sa généralité permet de penser qu'elle a un très solide avantage sélectif et, de fait, c'est la source la plus immédiate de création ou de conservation de la variabilité génétique. Cependant, certaines observations (CLARK et SHEPPARD, 1960 ; BODMER et PARSONS, 1962 ; ALLARD, 1963 ; RICK, 1965 et 1969 ; POISSON, 1970) jointes à de nombreux développements théoriques (KIMURA, 1956 et 1965 ; LEWONTIN et KODJIMA, 1960 ; LEWONTIN, 1964 ; FELSENSTEIN, 1965 ; BODMER et FELSENSTEIN, 1967 ; TURNER, 1967 ; FRANKLIN et LEWONTIN, 1970) révèlent l'existence, dans certains cas, de freins à la recombinaison, favorisant la conservation de certaines structures chromosomiques.

La notion de continuité fonctionnelle du chromosome, de sa structuration en sections coordonnées, l'aspect souvent non aléatoire de la localisation du crossing-over et la mise en évidence du contrôle génétique de la recombinaison, ont amené le développement récent de la théorie des linkats, structures chromosomiques efficaces soumises dans leur ensemble aux différentes pressions sélectives, et à l'intérieur desquelles la recombinaison serait très réduite (DEMARLY, 1970).

La définition statistique du linkat (faible probabilité d'apparition de crossing-over à l'intérieur, probabilité beaucoup plus élevée sur les régions adjacentes) lui confère un aspect dynamique, puisqu'il peut être détruit et reconstitué sous une forme équivalente ou différente, selon que les contraintes sélectives restent stables ou se modifient.

En ce qui nous concerne, l'étude de la localisation d'un gène de stérilité mâle partielle chez *Gossypium hirsutum*, et la recherche de marqueurs pouvant faciliter son utilisation dans un programme d'exploitation de l'hétérosis (LEFORT, 1970 *a*) nous ont permis d'établir, sur le chromosome 16 de *G. hirsutum* la carte d'une séquence de quatre gènes liés (LEFORT, 1970 *b*). Cette situation est particulièrement intéressante chez le Cotonnier, dont on ne connaît que très peu de mutants.

Nous avons entrepris l'analyse détaillée de cette séquence, dans le but d'apporter des éléments utiles à la connaissance des systèmes génétiques chez le Cotonnier, en particulier à propos des phénomènes de recombinaison, et de la vérification de la notion de linkat, dont les implications sont importantes en sélection.

I. — MATÉRIEL VÉGÉTAL

Les expériences de recombinaison rapportées ici ne concernent que le contexte intraspécifique *G. hirsutum*. Le contexte interspécifique dans le genre *Gossypium* introduit en effet, ainsi que certains travaux en font état (STEPHENS, 1949 ; KAMMACHER, 1965 ; SCHWENDIMAN, Comm. pers.) et ainsi que nous avons pu l'observer nous-même, de nombreuses perturbations liées à l'hybridité.

G. hirsutum race *latifolium*, originaire du Mexique, renferme la grande majorité des variétés

modernes de Cotonnier cultivées dans le monde. Son génotype correspond à la juxtaposition d'un génome A (génome des espèces diploïdes de l'ancien monde) et d'un génome D (génome des espèces diploïdes du nouveau monde). C'est ainsi un allotétraploïde ($2n = 4x = 52$), mais son comportement chromosomique est celui d'un diploïde ; on observe, en effet, toujours 26 bivalents à la méiose. Ce groupement AD, originaire d'Amérique centrale a été disséminé, au cours d'un passé récent, dans les régions d'Afrique et d'Asie.

Les 26 paires de chromosomes de *G. hirsutum* se répartissent donc en un subgénome A, qui renferme 13 paires de grands chromosomes (numérotés classiquement de 1 à 13) et en un subgénome D, renfermant 13 paires de chromosomes plus petits (numérotés de 14 à 26). Le bras court du chromosome D-16 porte les locus suivants :

Dw = « Dirty-white », induisant à l'état dominant la coloration de le fibre en kaki ;

Yg1 = « Yellow-green », gouvernant avec *Yg2* (porté par le chromosome homéologue A7) un caractère de déficience chlorophyllienne de la plante. L'interaction de ces deux gènes est de type dupliqué. Le caractère de déficience en chlorophylle s'exprime chez les homozygotes double récessifs ;

R1 = « Red », induisant à l'état dominant, la pigmentation anthocyanique de toute la plante.

Cl1 = « Cluster », provoquant à l'état récessif homozygote le raccourcissement des branches sympodiales de la plante, lui conférant un port peu étalé ou « groupé » ;

Ms3 = Mâle-stérile », c'est le locus que nous introduisons, il gouverne à l'état récessif homozygote une stérilité mâle partielle.

La bibliographie américaine (Hutchinson et Silow, 1939 ; Rhyne, 1957 et 1958 ; Endrizzi et Brown, 1964 ; Endrizzi et Kohel, 1966) donne du bras court du chromosome 16 la représentation suivante, obtenue, soulignons-le, à partir de tests n'ayant jamais fait intervenir plus de trois locus simultanément :

$$C^0 \underset{25}{\text{———}} Cl1 \underset{15}{\text{———}} R1 \underset{14}{\text{———}} Yg1 \underset{29}{\text{———}} Dw \text{———}$$

La liaison de *Ms3* avec *R1* et *Cl1* (Kammacher, Poisson et Schwendiman, 1966 et 1967) a permis de situer ce locus sur le chromosome D-16.

Les phénotypes induits par la présence des allèles dominants ou récessifs aux locus *Dw*, *Yg* et *R1* sont bien différenciés, et permettent l'étude des ségrégations sans ambiguïté. Il en va différemment pour le gène *Ms3* dont l'expression phénotypique est extrêmement variable. Nous avons donc, au cours d'expériences préliminaires étudié l'expression de la stérilité mâle partielle.

II. — L'EXPRESSION PHÉNOTYPIQUE DU GÈNE « *Ms3* »

Le phénotype des individus double récessifs au locus *Ms3* consiste en une indéhiscence parfois totale, le plus souvent partielle, des anthères le jour de l'ouverture de la fleur, et dans certains cas même en un simple retard à la libération du pollen. La fertilité femelle est totale. Le pollen émis est toujours viable.

La stérilité mâle, peu accusée dans les premiers jours de la floraison, augmente rapidement jusqu'à devenir presque totale au cours de la période de floraison maximale, puis diminue lentement avec les fleurs les plus tardives.

Le transfert du caractère mâle-stérile à trois variétés de l'espèce *G. hirsutum* nous a permis de mettre en évidence une influence importante du contexte génétique sur le niveau d'expression de la stérilité mâle.

Enfin une expérience destinée à mesurer l'influence de facteurs du milieu, a montré qu'un fort ensoleillement au cours de l'après-midi du jour précédant l'anthèse, des températures maximales élevées et un faible degré hygrométrique le matin même de l'anthèse sont en corrélation positive avec une intensification de la stérilité exprimée.

La connaissance de ces éléments nous a permis de différencier avec un peu plus de sûreté les phénotypes (*ms3*) et (*Ms3*), et d'établir ainsi, des notations plus précises dans nos ségrégations.

III. — EXPÉRIENCES DE RECOMBINAISON — RÉSULTATS

Les souches que nous avons utilisées possédaient les gènes marqueurs suivants :

T-414-ms = yg2/yg2, Cl1/Cl1 r1/r1 yg1/yg1 ms3/ms3 dw/dw ;
R1-Dw-yg2 = yg2/yg2, Cl1/Cl1 R1/R1 Yg1/Yg1 Ms3/Ms3 Dw/Dw.

L'hétérozygote en couplage *R1 Yg1 Ms3 Dw/r1 yg1 ms3 dw*, obtenu en F_1 du croisement *T-414-ms* × *R1-Dw-Yg2*, fût, d'une part rétrocroisé par *T-414-ms*, d'autre part autofécondé. La souche mâle-stérile partielle *T-414-ms*, était, bien entendu, chaque fois prise comme parent femelle.

Nous avons désigné *a posteriori* chaque région du bras court du chromosome de la façon suivante :

C° —— *cl1* —— *R1* —— *Yg1* —— *Ms3* —— *Dw* ——
région 4 région 3 région 2 région 1

A. — *Descendance issue de l'autofécondation de l'hétérozygote* R1 Yg1 Ms3 Dw/r1 yg1 ms3 dw.

La diminution des effectifs totaux observés révélée par le tableau 1, est due à la disparition de certains individus au cours de la période d'étude, ou à l'impossibilité de les noter pour certains caractères.

TABLEAU 1

Ségrégations observées dans la descendance par autofécondation de l'hétérozygote R1r1 Yg1yg1 Ms3ms3 Dwdw

R1-Yg1 801				*R1-yg1* 82				*r1-Yg1* 79				*r1-yg1* 203				Total 1 165
Ms3 745		*ms3* 43		*Ms3* 13		*ms3* 60		*Ms3* 63		*ms3* 5		*Ms3* 22		*ms3* 163		1 114
Dw 579	*dw* 128	*Dw* 18	*dw* 20	*Dw* 9	*dw* 3	*Dw* 19	*dw* 35	*Dw* 59	*dw* 3	*Dw* 4	*dw* 0	*Dw* 13	*dw* 8	*Dw* 55	*dw* 82	1 035

Ces données permettent d'établir la carte factorielle suivante :

—— *R1* —— 15,1 ± 1,0 —— *Yg1* —— 7,9 ± 0,7 —— *Ms3* —— 26,7 ± 1,6 —— *Dw* ——

R1 —— 19,1 ± 1,1 —— *Ms3*

Yg1 —— 27,6 ± 1,7 —— *Dw*

R1 —— 38,2 ± 2,0 —— *Dw*

B. — *Descendance par rétrocroisement de l'hétérozygote* R1 Yg1 Ms3 Dw/r1 yg1 ms3 dw *par le récessif complet*

Deux familles de rétrocroisement furent analysées, l'homogénéité des proportions parentaux-recombinés autorise leur regroupement.

TABLEAU 2

Ségrégations observées dans la descendance issue de rétrocroisement de l'hétérozygote R1r1 Yg1yg1 Ms3ms3 Dwdw *par le récessif complet*

R1-Yg1 690				*R1-yg1* 110				*r1-Yg1* 155				*r1-yg1* 574				Total 1 529
Ms3 639		*ms3* 50		*Ms3* 15		*ms3* 93		*Ms3* 137		*ms3* 17		*Ms3* 48		*ms3* 512		1 511
Dw 398	*dw* 238	*Dw* 18	*dw* 32	*Dw* 6	*dw* 9	*Dw* 16	*dw* 74	*Dw* 109	*dw* 27	*Dw* 6	*dw* 110	*Dw* 30	*dw* 18	*Dw* 180	*dw* 325	1 497

Ces données permettent d'établir la carte factorielle suivante :

R1 — 17,3 ± 1,0 — *Yg1* — 8,6 ± 0,7 — *Ms3* — 34,2 ± 1,2 — *Dw*

R1 — 21,7 ± 1,1 — *Ms3*

Yg1 — 36,1 ± 1,2 — *Dw*

R1 — 45,3 ± 1,3 — *Dw*

C. — *Observations sur les données*

Les calculs (voir en annexe) montrent que la descendance issue de l'autofécondation de la F_1 présente, dans la plupart des cas, des disjonctions que l'on peut considérer comme conformes aux proportions 3 : 1. Cependant, si la probabilité de conformité est très élevée pour les locus *Yg1* et *R1* dans la population initiale de 1 165 plantes, elle devient faible dans la population de 1 035 individus. Cette distorsion semble due à la disparition préférentielle de certains phénotypes, en particulier des phénotypes récessifs *yg1*.

Dans la descendance de rétrocroisement de la F_1, la probabilité de conformité aux proportions 1 : 1 est toujours élevée pour le locus Dw, mais les trois autres locus (excepté *R1* sur la population initiale) présentent d'emblée des biais importants par rapport aux proportions attendues. On peut toutefois remarquer que, comme dans le cas de la population précédente, le biais augmente avec la disparition de certains phénotypes.

Aussi, nous sommes-nous posé les questions suivantes :

1° A quel stade (gamétique ou zygotique) intervient la cause du déficit initial en phénotypes récessifs *yg1* observé dans la descendance rétrocroisée ?

Des expériences complémentaires, basées sur des tests de germination différés dans le temps d'un même lot de graines, nous ont montré que la perte rapide de viabilité des graines homozygotes récessives pour *yg1* est la cause essentielle du déficit en phénotypes *yg1* dans la descendance du rétrocroisement.

Une série de tests identique a montré que la F_2 issue de l'autofécondation est par contre, beaucoup moins sensible à ce phénomène.

Ceci peut s'expliquer par le fait que, si l'état double récessif homozygote au locus *yg1* a un effet délétère, cet effet est renforcé lorsque d'autres locus de la séquence sont également à l'état muté, en particulier lorsque les quatre locus sont à l'état récessif homozygote, ce qui se produit plus fréquemment dans la descendance du rétrocroisement (21,7 p. 100 des cas) que dans celle de la F_2 issue de l'autofécondation (7,9 p. 100 des cas).

2° Les taux de recombinaison évalués sur chacune des descendances sont-ils biaisés par la disparition sélective de certains génotypes, et dans quel sens ces biais éventuels agissent-ils ?

— En ce qui concerne la F_2 autofécondée, un calcul consistant à intégrer à la ségrégation les individus non notés, une première fois en maximisant les effectifs parentaux, une seconde fois en maximisant les effectifs recombinés, montre que le biais introduit par leur absence conduit à une sous-estimation des taux de recombinaison.

— En ce qui concerne la descendance du rétrocroisement, le calcul de la distorsion provoquée par l'effet délétère des gènes *yg1* et *ms3*, à l'état récessif homozygote, montre qu'il provoque une réduction de la fréquence observée par rapport à la fréquence réelle, pour toutes les classes de recombinaison, ainsi que pour la classe parentale, et ceci dans des proportions à peu près identiques pour chacune. Cependant les recombinés sur la région 2, les doubles recombinés sur les régions 1 et 2 d'une part, 2 et 3 d'autre part, et les triples recombinés voient leurs effectifs légèrement plus réduits que les quatre autres classes. On peut ainsi en conclure que les taux de recombinaison calculés sur la descendance du rétrocroisement doivent être légèrement sous-évalués, particulièrement sur la région 2.

D. — *Comparaison des résultats obtenus par la descendance autofécondée et par le rétrocroisement*

Les différences observées entre les deux estimations sont statistiquement significatives pour les régions 1, 1 + 2 et 1 + 2 + 3, non significatives pour les régions 2, 3 et 2 + 3. Ceci joint au fait que la quantité dont diffèrent les estimations sur les régions 1, 1 + 2 et 1 + 2 + 3 reste à peu près constante (respectivement 7,5, 8,5 et 7,1) suggère que seul le taux de recombinaison de la région 1 diffère effectivement dans la descendance autofécondée et dans le rétrocroisement.

Notons que, compte tenu du sens adopté pour ces croisements, la descendance autofécondée donne une estimation moyenne du taux de recombinaison paternel et maternel, alors que le rétrocroisement ne mesure que le taux de recombinaison paternel. Ainsi, sur la région 1 du chromosome, la recombinaison serait plus intense au cours de la gamétogenèse mâle, qu'au cours de la gamétogenèse femelle.

TABLEAU 3

Comparaison des estimations des taux de recombinaison obtenus dans la descendance autofécondée et dans le rétrocroisement par le test d'homogénéité de MATHER (1936)

Région	Estimation par la descendance autofécondée	Estimation par le rétrocroisement	$\frac{P1 - P2}{VP1 - VP2}$
1	26,7 ± 1,7	34,2 ± 1,2	3,66**
2	7,9 ± 0,7	8,6 ± 0,7	0,69
3	15,1 ± 1,0	17,3 ± 1,0	1,62
1 + 2	27,6 ± 1,7	36,1 ± 1,2	4,03**
2 + 3	19,1 ± 1,1	21,7 ± 1,1	1,68
1 + 2 + 3	38,2 ± 2,0	45,3 ± 1,3	2,98**

** Différence significative au seuil de probabilité 0,01.

E. — *Étude de la coïncidence entre régions contiguës*

Si N est l'effectif total de la population ségrégante, le taux de coïncidence C entre les régions contiguës A et B sera :

$$C = \frac{\text{Nombre de crossing-over doubles } CO_A \times CO_B \text{ observé}}{N \text{ (fréq. } CO_A \times \text{fréq. } CO_B)}$$

Les calculs conduisent aux valeurs du tableau 4 :

TABLEAU 4

Taux de coïncidence entre régions contiguës

Régions	Taux de coïncidence	
	en F_2 autofécondée	en rétrocroisement
1/2	151 %	115 %
2/3	145	142
1/2 + 3	85	71
1 + 2/3	67	54

Ces valeurs, estimées soulignons le par défaut dans les deux descendances, sont très voisines, excepté pour la coïncidence entre les régions 1 et 2. Notons que dans ce cas il vaut mieux prendre en considération l'estimation obtenue par la F_2, compte tenu de la meilleure conformité de cette descendance aux proportions attendues et de la sous-estimation possible en rétrocroisement des recombinaisons se produisant sur la région 2.

Ainsi les taux de coïncidence calculés entre les régions 1 et 2 d'une part, 2 et 3 d'autre part, indiquent que les crossing-over interfèrent négativement entre ces segments de chromosome. Un crossing-over s'étant produit sur la région 2 (ou 3), la probabilité d'en voir apparaître un second sur la région 1 (ou 2) en sera augmentée.

Sur l'ensemble du segment chromosomique étudié, l'interférence est cependant positive. Un crossing-over se produisant sur la région 3 (ou 2 + 3), la probabilité d'en voir apparaître un second sur la région 1 + 2 (ou 1) en sera diminuée.

Il ressort de ceci que, dans le cas d'un crossing-over double, le premier échange ayant lieu sur la région 3, le second se produit, compte tenu des longueurs respectives, plus souvent sur la région 2 que sur la région 1. De même si l'un des échanges a lieu sur la région 1, le second se situe relativement plus fréquemment sur la région 2 que sur la région 3.

La région 2 (*Yg1-Ms3*) apparaît donc particulière, en ce qui concerne le crossing-over. Elle semble soumise à une fréquence d'échanges proportionnellement plus élevée que celle des régions adjacentes 1 et 3. Ce segment pourrait posséder un point privilégié de cassure et d'échange.

IV. — DISCUSSION DES RÉSULTATS

Après analyse des biais existant dans nos données, les résultats permettent de dégager trois points importants :

1° Il se produit, sur le segment de chromosome étudié, des simples, des doubles et des triples crossing-over.

2° La région 2 (*Yg1-Ms3*) semble posséder un point de cassure et d'échange privilégié.

3° La fréquence de recombinaison sur la région 1 (*Ms3-Dw*) apparaît plus intense dans le processus de la gamétogenèse mâle que dans celui de la gamétogenèse femelle.

Le premier et le troisième point nous paraissent se référer plus particulièrement au contrôle génétique de la recombinaison ; le second point concerne plutôt l'éventuelle structuration du chromosome en linkats, distinction sans doute artificielle si l'on considère l'étroite liaison qui existe entre les deux phénomènes.

A. — *Le contrôle génétique de la recombinaison*

Les travaux américains sur la recombinaison dans le genre *Gossypium*, basés sur des observations cytologiques (Menzel et Brown, 1954) ou sur des études de ségrégations (Stephens, 1955 ; Rhyne, 1957), font état de la rareté des doubles crossing-over. Les expériences faites ces dernières années dans les conditions de l'Afrique de l'Ouest (Kammacher, Poisson et Schwendiman, 1967 ; Kammacher, 1968 ; Poisson, 1970) ainsi que celles que nous rapportons ici, montrent au contraire que les doubles, et même les triples recombinés sont fréquents. Il se pourrait donc, que dans les conditions écologiques africaines, les phénomènes de recombinaison chez *G. hirsutum* soient plus intenses que dans les conditions américaines.

Cette hypothèse, jointe à l'observation que nous avons faite d'une fréquence de recombinaison plus élevée au cours du processus de la gamétogenèse mâle qu'au

cours de celui de la gamétogenèse femelle, introduit la notion de contrôle génétique de la recombinaison.

L'établissement de cette notion résulte de nombreux travaux et observations. La découverte et l'étude des locus d'asynapsie chez *Triticum aestivum* (Riley et Chapman, 1967 et 1970 ; Hayter et Riley, 1967 ; Feldman, 1969 ; Riley et Miller, 1970), les expériences visant à faire varier par sélection le taux de recombinaison (Detlefsen et Roberts, 1921 ; Sheppart, 1953 ; Allard, 1963 ; Moyer, 1964 ; Chinnici, 1971) contribuent à définir la fréquence de recombinaison comme contrôlée par le génotype. D'autre part, l'interférence entre crossing-over successifs le long d'un même chromosome, phénomène dont la variabilité est souvent importante entre espèces voisines (Parsons, 1958), et, dont la valeur est de toute façon très différente selon les organismes, loin d'être une constante propre au chromosome, apparaît plutôt comme une composante de la régulation globale de la recombinaison.

Quelques auteurs ont analysé les facteurs susceptibles d'influencer la recombinaison au sens large. Grant (1958) fait observer qu'au sein d'une espèce, deux facteurs contradictoires sont fréquemment associés, constituant une balance de régulation de la recombinaison (nombre de chromosomes, fréquence des chiasma, auto- ou allogamie, interstérilité, mode de dispersion du pollen et des graines, durée des générations, étendue de la population).

Tout ceci fait apparaître la recombinaison comme un phénomène, d'une part soumis à la sélection naturelle et régulé par le génome, d'autre part en équilibre avec les autres composantes de système génétique, et en particulier avec le mode de reproduction.

Pandey (1972) généralisant les découvertes faites récemment sur les champignons (Simchen et Stanberg, 1969) propose une théorie de la régulation de la recombinaison chez les organismes supérieurs. Le système comporterait :

— Un contrôle général, gouverné par un grand nombre de gènes, s'exerçant sur les événements chromosomiques essentiels qui précèdent, suivent ou sont en marge du processus propre de la recombinaison, mais qui restent généraux et ne requièrent pas la spécificité des régions. La réduction de la fréquence de recombinaison serait le fait des allèles récessifs, son augmentatoin celui des allèles dominants.

— Un contrôle fin, gouverné par un petit nombre de gènes (un seul pouvant contrôler la recombinaison sur plusieurs segments chromosomiques) concernant la phase précoce du processus de la recombinaison, phase ou intervient la spécificité des régions. L'état dominant des gènes réduirait la fréquence de recombinaison, l'état récessif l'augmenterait.

Ce dernier contrôle permettrait la mise en place de structures localisées sur certaines régions chromosomiques, qui favoriseraient une plus grande adaptation du phénotype ; il interviendrait donc dans la mise en place, le remodelage ou la destruction des linkats.

B. — *La structuration du chromosome en linkats*

L'hypothèse d'un point de cassure et d'échange privilégié sur la région 2 du chromosome 16, ressort de l'observation d'interférences négatives entre les régions 1 et 2 d'une part, 2 et 3 d'autre part, alors que les régions 1 et 2 + 3 d'une part, 1 + 2 et 3 d'autre part interfèrent positivement.

Un point particulier de la région 2 séparerait ainsi deux structures, chacune bien coordonnée, et correspondant respectivement aux marqueurs *R1-Yg1* et *Ms3-Dw*.

La notion de linkat s'appuie d'une part sur l'existence dans la nature de groupements fonctionnels liés, au niveau du génotype, (un des plus connu est le système contrôlant le polymorphisme de la fleur chez la Primevère) d'autre part sur des études théoriques faites à partir de différents modèles en génétique des populations.

FISHER (1930) mentionna le premier l'importance du linkage entre deux locus interagissant, du point de vue de l'évolution et de l'organisation du génome. A sa suite de nombreuses analyses théoriques furent réalisées sur les effets de l'interaction entre la sélection et le linkage, dues notamment à KIMURA (1956 et 1965), LEWONTIN et KIDJIMA (1960), BODMER et PARSONS (1962), LEWONTIN (1964), FELSENSTEIN (1965), BODMER et FELSENSTEIN (1967), TURNER (1967), FRANKLIN et LEWONTIN (1970).

Ces études ont conduit à définir trois notions d'indépendance entre deux locus :

— Indépendance de fonction, s'il n'y a pas d'épistasie ;

— Indépendance de liaison, si le taux de recombinaison est de 50 p. 100 ;

— Indépendance des gènes au sein de la population, si le déséquilibre de linkage (ou excès gamétique, ou encore déséquilibre de phase gamétique est nul, soit $D = 0$. Ce terme D est ainsi défini :

$$D = g_{AB}\, g_{ab} - g_{Ab}\, g_{aB}$$

soit la différence entre le produit des fréquences des gamètes en couplage, et celui des gamètes en répulsion. D mesure la différence entre la fréquence réelle des gamètes *AB*, et celle qu'elle serait si les allèles aux locus *A* et *B* étaient associés au hasard dans la population.

A partir de ces définitions, ont été établies les conditions d'obtention d'un linkat ; il faut avoir tout d'abord :

— *r*, taux de recombinaison entre *A* et *B* inférieur à 50 p. 100.

— D, différent de 0, soit une association des allèles différente d'une association aléatoire.

Ensuite,

— Dans le cas où les valeurs adaptatives de *A* et *B*, sont indépendantes, on aura toujours $D = 0$, il n'y aura jamais tendance à la formation de linkat.

— Dans le cas où les valeurs adaptatives de *A* et *B* sont multiplicatives, et si *r* est inférieur à une valeur seuil r_0, fonction de ces valeurs adaptatives et de la fréquence d'autres locus voisins, on aura un point stable pour $D \neq 0$, et tendance à la formation d'un linkat.

Une des conditions d'installation du linkat est donc que les gènes impliqués soient proches, ceci pouvant se produire par « coagulation », c'est-à-dire par le rapprochement de gènes initialement éloignés, ou bien par mutation dont l'installation sera encouragée par la présence d'un locus voisin interagissant avec le locus muté (BODMER et PARSONS, 1962).

TURNER (1967 *a* et *b*), à partir d'un modèle à deux locus, incluant l'épistasie, l'excès gamétique et la recombinaison, étudie la valeur adaptative moyenne ($\overline{W}$) d'une population. Les calculs montrent que la représentation de $\overline{W}$ en fonction de D, est une parabole (fig. 1).

Au départ, le déséquilibre gamétique est grand, la valeur adaptative faible. La recombinaison, conduisant à de nouvelles formules génotypiques, et la sélection naturelle vont contribuer ensemble à augmenter la valeur adaptative (phase B). TURNER définit cette phase comme un « passage accéléré ». Dans la phase A, au contraire, si la sélection naturelle continue à accroître la valeur adaptative, la recombinaison tendra à la faire décroître, en produisant des formules moins favorables que celles qui existaient déjà. TURNER définit cette phase comme un « passage ralenti ».

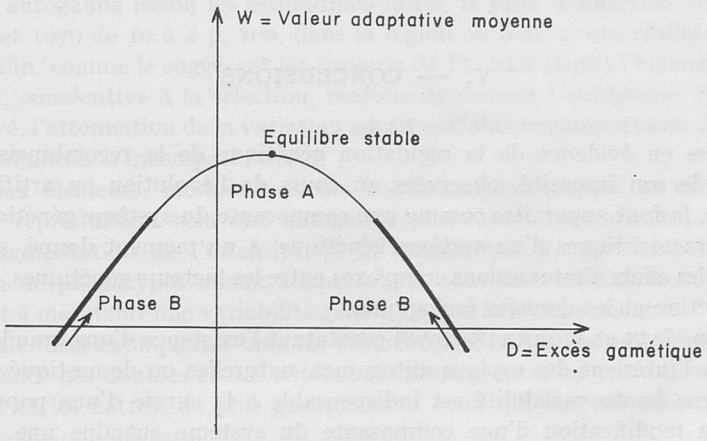


FIG. 1. — *Représentation de la valeur adaptative moyenne d'une population en fonction de l'excès gamétique*
(d'après TURNER)

Au cours des passages accélérés, la population aura avantage à augmenter sa fréquence de recombinaison et à sélectionner des linkages faibles, alors que dans les passages ralentis, cas le plus général, la population minimisera la recombinaison et augmentera le linkage ; il y aura élaboration de linkats.

Si cette évolution n'était pas réprimée, le génotype entier se condenserait : il n'y aurait plus de crossing-over. TURNER cite en fait de nombreuses forces réprimant le phénomène, entre autres, les effets délétères des modifications structurales des chromosomes, les fluctuations de l'environnement, et surtout, les interactions complexes qui se produisent dès que le nombre des locus augmente. Dans les modèles à plus de deux locus on observe qu'en définitive ce n'est pas la fréquence maximale ou minimale de recombinaison qui est recherchée, mais la fréquence optimale.

FRANKLIN et LEWONTIN (1970) étendent l'étude à un grand nombre de locus. Ils aboutissent également à la notion de recombinaison optimale, minimisant la charge génétique et maximisant la valeur adaptative. Ils concluent que la représentation normale du chromosome, pour un grand nombre de gènes, est en blocs liés, la sélection naturelle opérant sur ces blocs liés. Le chromosome entier n'est pas plus un super-locus qu'il n'est constitué de locus unitaires indépendants, c'est plutôt une série de complexes ségrégeant plus ou moins indépendamment.

Ces mêmes auteurs, à partir d'un modèle à 36 locus, montrent que, du fait de la

sélection pour une recombinaison optimale, les types gamétiques sont excessivement réduits. Dans leur expérience de simulation, il apparaît qu'au bout d'un petit nombre de générations deux types seulement de gamètes représentent 80 p. 100 de l'ensemble des gamètes produits.

Enfin, la notion de linkat conduit à une interprétation intéressante de certains faits expérimentaux, notamment à propos du comportement en unités protégées de fragments de chromosomes transférés dans un génome étranger (Rick, 1965 et 1969 ; Poisson, 1970).

V. — CONCLUSIONS

La mise en évidence de la régulation génétique de la recombinaison, et les variations de son intensité, observées au cours de l'évolution ou artificiellement provoquées, la font apparaître comme une composante du système génétique global.

Les caractéristiques d'un système génétique, à un moment donné, sont déterminées par les effets d'interactions complexes entre les facteurs génétiques, le système de reproduction et les données écologiques.

Allard, Jain et Workman (1968) constatant l'existence d'une grande diversité génétique à l'intérieur des espèces autogames, naturelles ou domestiquées, en concluent qu'une haute variabilité est indispensable à la survie d'une population, et que, « si la modification d'une composante du système entraîne une restriction défavorable de la variabilité, la population ne se maintiendra que s'il se produit une modification compensatrice au niveau d'autres composantes ».

Pour ces auteurs, ces modifications seraient plus le fait de variations d'ordre écologique que d'ordre génétique. Cependant, selon Pandey (1972), il pourrait en être autrement, et le modèle qu'il propose pour la régulation de la recombinaison chez les organismes supérieurs, suggère l'intervention de mécanismes génétiques autorégulateurs contrôlant la recombinaison à des locus majeurs.

Ceci est à rapprocher du problème récemment soulevé en génétique des populations, par la découverte de la très forte variation allélique des gènes de structure codant pour les enzymes et les autres protéines (Lewontin, 1973). Les expériences montrent, en effet, qu'au minimum 30 p. 100 des locus des gènes de structure seraient ségrégeants dans les populations de *Drosophila pseudoobscura*, ce qui correspondrait, chez un individu quelconque, à 12 p. 100 de locus hétérozygotes (Lewontin et Hubby, 1966).

L'interprétation de cette hétérogénéité donne lieu à deux théories. Pour les uns, elle correspond à un potentiel d'adaptation en face des variations nombreuses qui se produisent à tout moment dans l'état de la population, et permet ainsi à l'évolution de se poursuivre, si, toutefois, les changements de l'environnement ne sont pas trop brutaux. Pour les autres, ces variations alléliques observées ne sont pas en rapport avec la physiologie et l'anatomie de l'organisme qui les porte, et elles seraient sélectivement neutres ; la plupart des modifications dans les séquences d'acides aminés se seraient produites indépendamment de la sélection naturelle (Kimura et Ohta, 1971).

Quoi qu'il en soit, les mécanismes contrôlant, la structuration du génome et le

système de reproduction apparaissent complémentaires et interdépendants, tous les deux travaillant à l'acquisition et à la conservation de la variabilité.

Ces théories et ces modèles conduisent à des interprétation intéressantes de nos résultats. Il faut tout d'abord remarquer que le matériel Cotonnier allotétraploïde cultivé, apparu en Amérique centrale, est d'introduction récente en Afrique. D'autre part, la culture cotonnière s'étant considérablement intensifiée au cours des quinze dernières années en Afrique occidentale, l'utilisation des insecticides s'est corrélativement beaucoup développée, détruisant ou écartant les pollinisateurs, et renforçant ainsi l'autogamie (selon les estimations faites, le taux d'allogamie serait passé entre 1958 et 1970 de 10 à 2 p. 100, dans la région où nous avons réalisé nos expériences). Enfin, comme le suggèrent les travaux de PLONKA (1972) l'homogénéisation du matériel, consécutive à la sélection, renforce également l'autogamie. Ainsi, chez le Lin cultivé, l'atténuation de la variation aurait entraîné une importante diminution du nombre d'allèles d'incompatibilité.

Ces deux éléments, modification des conditions écologiques, et évolution du système de reproduction vers une autogamie plus stricte, ont pu être compensés par une augmentation de l'intensité de la recombinaison, favorisant d'une part l'apparition de phénotypes mieux adaptés aux nouvelles conditions, contribuant d'autre part à maintenir une variabilité génétique que le renforcement de l'autogamie amoindrissait. Ceci expliquerait bien les différences apparues, notamment à propos de la fréquence des doubles et des triples recombinés, entre les travaux réalisés aux États-Unis, et les nôtres, ou plus généralement ceux qui ont été effectués dans le contexte écologique africain.

En revenant au modèle de PANDEY, on peut considérer que cet ajustement de la recombinaison serait le fait du système de contrôle général du phénomène.

De plus, la fréquence de recombinaison n'apparaît pas homogène le long du chromosome : elle semble d'une part plus intense en certains points, d'autre part différente pour certaines régions au cours des gamétogenèses mâles et femelles. Ces deux éléments ressortiraient du système de contrôle fin de régulation de la recombinaison. Ce dernier, concerné par la spécificité des régions, interviendrait donc au niveau de la formation des linkats.

L'évolution du matériel vers une autogamie plus stricte, renforce, par ailleurs, l'hypothèse de la structuration, ou de l'évolution de la structuration du chromosome étudié en linkats. ALLARD, JAIN et WORKMAL (1968) ont montré, en effet, que, si l'on augmente l'autogamie au sein d'une population, on obtient le même effet sur le déséquilibre gamétique qu'une augmentation de linkage : ce déséquilibre grandit ($D \neq 0$), et les conditions d'installation du linkat s'établissent. Notons qu'ainsi, le linkat pourrait être plus une caractéristique d'autogames que d'allogames.

Ces interprétations sont importantes du point de vue de l'amélioration du Cotonnier. FRANKLIN et LEWONTIN (1970) ont montré, par des expériences de simulations que, malgré le grand polymorphisme des locus dans une population, étant donné une distance de carte chromosomique assez faible, et un désavantage lié à l'homozygotie modéré, une structure hautement corrélée pourra se développer, ayant pour conséquence la production d'un nombre très restreint de types gamétiques différents.

Nos résultats, s'ils font ressortir la complexité des phénomènes liés à l'équilibre des différentes composantes d'un système génétique, permettent cependant de rendre

compte de la validité chez le Cotonnier de modèles élaborés à partir de matériels différents. Ils nous ont amenés à la mise en évidence de trois points pratiques, que nous pourrons intégrer utilement aux schémas d'amélioration :

— L'évolution de reproduction vers une autogamie renforcée.
— L'intensité élevée des phénomènes de recombinaison.
— La présomption d'organisation des structures chromosomiques en linkats.

Reçu pour publication en mars 1975.

SUMMARY

CONTRIBUTION TO THE ANALYSIS OF THE COTTON PLANT'S GENETIC SYSTEMS

The research for markers of the partial male sterility, *ms3*, gene made possible the construction of the map of a four-linked-gene sequence on the short member of the D-16 chromosome in *Gossypium hirsutum*. After several preliminary experiments, devoted to specifying the ways by which male sterility is expressed, a study was made of the sequence by observing segregations obtained in the offspring of self-fertilization and back-crossing of the heterozygote, the four loci pairing.

Three main points emerge from the results : the high frequency of recombination that is found, the possible existence of a preferential breaking and exchange point, and a possible difference on one of the chromosome segments between the recombination intensity during the two processes of male and female gametogenesis. These points are discussed and interpreted in terms of the genetic control of recombination and the linkat DEMARLY's theory, in vascular plants. From a practical point of view, these results permit three new elements to be added to the breeding schemes of the *G. hirsutum* species in West Africa : the evolution of the reproductive system towards intensified autogamy, the high intensity of recombination phenomena, the presumptive existence of linkats.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ALLARD R. W., 1963. Evidence for genetic restriction of recombination in Lima Bean. *Genetics*, **48**, 1389-1395.

ALLARD R. W., JAIN S. K., WORKMAN P. L., 1968. The genetics of inbreeding populations. *Adv. Genet.*, **14**, 55-131.

BODMER W. F., FELSENSTEIN J., 1967. Linkage and selection : theoretical analysis of the deterministic two locus random mating model. *Genetics*, **57**, 237-265.

BODMER W. F., PARSONS P. A., 1962. Linkage and recombination in evolution. *Adv. Genet.*, **11**, 1-100.

CHINNICI J., 1971. Modification of recombination frequency in Drosophila. I. Selection for increased and decreased crossing over. *Genetics*, **69**, 71-83. II. The polygenic control of crossing over. *Genetics*, **69**, 85-96.

CLARKE C. A., SHEPPARD P M., 1960. The evolution of mimicry in the butterfly *Papilio dardanus*. *Heredity*, **14**, 163-173.

DEMARLY Y., 1970. Genetic comparisons in di-and tetraploids. *Eucarpia Fodder Crops Section Meeting. Lusignan*, juillet 1970, 9-37.

DETLEFSEN J. A., ROBERTS E., 1921. Studies on crossing-over. I. The effects of selection on cross-over values. *J. exper. Zool.*, **32**, 333-354.

ENDRIZZI J. E., BROWN M. S., 1964. Identification of monosomes for six chromosomes in *Gossypium hirsutum*. *Amer. J. Bot.*, **51**, 117-119.

ENDRIZZI J. E., KOHEL R. J., 1966. Use of telosomes in mapping three chromosomes in Cotton. *Genetics*, **54**, 535-550.

FELDMAN M., 1969. Somatic association in common wheat, its mechanism and genetic control. *Abstr. Pap. 11th Internat. Bot. Congr.*, 59.

FELSEINSTEIN J., 1965. The effect of linkage on directional selection. *Genetics*, **52**, 349-363:

FISHER R. A., 1930. *The general theory of natural selection*. Clarendon Press, Oxford.

FRANKLIN J., LEWONTIN R. C., 1970. Is the gene the unit of selection ? *Genetics*, **65**, 707-734.

GRANT V., 1958. The regulation of recombination in plants. *Cold Spring Harbor Symp. quant. Biol.* **23**, 337-363.

HAYTER A. M., RILEY R., 1967. Duplicate genetic activities affecting meiotic chromosome pairing at low temperatures in *Triticum*. *Nature*, London, **216**, 1028-1029.

HUTCHINSON J. B., SILOW R. A., 1939. Gene symbols for use in Cotton genetics. *J. Hered.*, **30**, 461-464.

KAMMACHER P., 1965. *Étude des relations génétiques et caryologiques entre génomes voisins du genre* Gossypium. Thèse Doc. ès-Sci., Orsay nº 73, Paris.

KAMMACHER P., POISSON C., SCHWENDIMAN J., 1966. Note préliminaire sur la localisation chromosomique d'un gène de stérilité pollinique chez le Cotonnier. *Coton Fib. trop.*, **21**, 233-234.

KAMMACHER P., POISSON C., SCHWENDIMAN J., 1967. Étude de la localisation chromosomique du gène *ms3* de stérilité pollinique partielle du Cotonnier. *Coton Fib. trop.*, **22**, 417-420.

KIMURA M., 1956. A model of a genetic system which leads to close linkage by natural selection. *Évolution*, **10**, 278-287.

KIMURA M., 1965. Attaintement of quasi linkage equilibrium when gene frequencies are changing by natural selection. *Genetics*, **52**, 875-890.

KIMURA M., OHTA T., 1971. Protein polymorphism as a phase of molecular evolution. *Nature*, **229**, 467-469.

LEFORT P. L., 1970 *a*. Essai de mise au point d'une méthode de production à grande échelle d'hybrides de première génération, *Gossypium hirsutum* × *G.barbadense*. *Coton Fib. trop.*, **25** 435-442.

LEFORT P. L., 1970 *b*. Étude complémentaire de la localisation du gène de stérilité pollinique partielle *ms3*, sa liaison avec *yg1*. *Coton Fib. trop.*, **25**, 311-314.

LEWONTIN R. C., 1964 *a*. The interaction of selection and linkage. I. General considerations, heterotic models. *Genetics*, **49**, 49-67.

LEWONTIN R. C., 1964 *b*. The interaction of selection and linkage. II. Optimum models. *Genetics*, **50**, 757-782.

LEWONTIN R. C., 1964 *c*. The role of linkage in natural selection. *Proc. 11th Intern. Congr. Genet.* **3**, 517-525.

LEWONTIN R. C., 1973. Population genetics. *Annu. Rev. Genet.*, **7**, 1-18.

LEWONTIN R. C., KODJIMA K., 1960. The evolutionary dynamics of complex polymorphisms. *Evolution*, **14**, 458-472.

LEWONTIN R. C., HUBBY J. L., 1966. A molecular approach of the study of genic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation an degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics*, **54**, 595-609.

MATHER K., 1936. *The measurement of linkage in heredity*. Metheun and CºLtd, London, 132 p.

MENZEL M., BROWN M. S., 1954. The tolerance of *Gossypium hirsutum* for deficiences on duplications. *Amer. Naturalist*, **88**, 407-418.

MOYER S. E., 1964. Selection for modification of recombination frequency of linked genes. *Univ. Minnesota Diss. Abstr.*, **25**, 1508-1509.

PANDEY K. K., 1972. Origin of genetic variation : regulation of genetic recombination in the higher organisms. A theory. *Theor. appl. Genet.*, **42**, 250-260.

PARSONS P. A., 1958. Selection for increased recombination in *Drosophila melanogaster*. *Amer. Naturalist*, **92**, 255-256.

PLONKA F., 1972. *La compétition pollinique chez le lin cultivé*. Thèse Doc. ès-Sci., Faculté de Paris.

POISSON C., 1970. *Contribution à l'étude de l'hybridation interspécifique dans le genre* Gossypium : *transfer de matériel génétique de l'espèce sauvage diploïde* Gossypium anomalum *à l'espèce cultivée tétraploïde* G. hirsutum. Thèse Doc. ès-Sci., Orsay nº 697, Paris.

REES H., THOMPSON J. B., 1956. Genotypic control of chromosome behaviour in Rye. III. Chiasma frequency in homo-and heterozygotes. *Heredity*, **10**, 409-424.

RHYNE C., 1957. Duplicated linkage groups in Cotton as indicated by the *yg1* and *Dw* loci. *J. Hered.*, **48**, 59-62.

RHYNE C., 1958. Linkage studies in *Gossypium*. I. Altered recombination in allotetraploid *G. hirsutum* L., following linkage group transferance from deploid species. *Genetics*, **43**, 822-834.

RICK C. M., 1965. Modifications of recombination in a tomato species hybrid. *Genetics*, **52**, 468-469.

RICK C., 1969. Controlled introgression of chromosomes *pennellii* into *Lycopersicon esculentum* : segregation and recombination. *Genetics*, **62**, 753-768.

RILEY R., CHAPMAN V., 1967. Effect of $5B^S$ in suppressing the extension of altered dosage of $5B^L$ on meiotic chromosome pairing in *Triticum aestivum*. *Nature*, **216**, 60-62.

RILEY R., MILLER T. E., 1970. Meiotic chromosome pairing in Triticale. *Nature*, **227**, 82-83.

SHEPPARD P. M., 1953. Polymorphism, linkage and the blood groups. *Amer. Naturalist*, **87**, 283-294.

SIMCHEN G., STANBERG J., 1969. Fine and coarse controls of recombination. *Nature*, **222**, 329-332.

STEPHENS S. G., 1949. The cytogenetics of speciation in *Gossypium*. I. Selective elimination of the donnor parent genotype in interspecific backcrosses. *Genetics*, **34**, 627-637.

STEPHENS S. G., 1955. Linkage in Upland Cotton. *Genetics*, **40**, 903-917.

TURNER J. R. G., 1967 *a*. Why does the genotype not congeal ? *Evolution*, **21**, 645-656.

TURNER J. R. G., 1967 *b*. On the super genes : the evolution of supergenes. *Amer. Naturalist*, **101**, 195-221.

ANNEXE

1. — *Descendance issue de l'autofécondation de l'hétérozygote* R1 Yg1 Ms3 Dw/r1 yg1 ms3 dw

Région 1		Test de disjonction 3 : 1					Test d'indépendance *Ms3/Dw*	
Phénotypes	Effectifs	+	—	Total	χ^2	Probabilité	χ^2	Probabilité
Ms3 Dw	660	*Ms3*	*ms3*					
Ms3 dw	142	802	233	1 035	3,417	0,05-0,10		
ms3 Dw	96	*Dw*	*dw*				149,2	Très faible
ms3 dw	137	756	279	1 035	2,113	0,10-0,20		
Total	1 035							

Taux de recombinaison *Ms3-Dw* = 26,7 ± 1,6.

Région 2		Test de disjonction 3 : 1					Test d'indépendance *Yg1/Ms3*	
Phénotypes	Effectifs	+	—	Total	χ^2	Probabilité	χ^2	Probabilité
Yg1 Ms3	808	*Yg1*	*yg1*					
Yg1 ms3	48	856	258	1 114	2.012	0,10-0,20		
yg1 Ms3	35	*Ms3*	*ms3*				656,7	Très faible
yg1 ms3	223	843	271	1 114	0,269	0,60-0,70		
Total	1 114							

Taux de recombinaison *Yg1-Ms3* = 7,9 ± 0,7.

Région 3		Test de disjonction 3 : 1					Test d'indépendance *R1/Yg1*	
Phénotypes	Effectifs	+	—	Total	χ^2	Probabilité	χ^2	Probabilité
R1 Yg1	801	*R1*	*r1*					
R1 yg1	82	883	282	1 165	0,392	0,50-0,60		
r1 Yg1	79	*Yg1*	*yg1*				438,8	Très faible
r1 yg1	203	880	285	1 165	0,179	0,60-0,70		
Total	1 165							

Taux de recombinaison *R1-Yg1* = 15,1 ± 1,0.

Région 1 + 2		Test de disjonction 3 : 1					Test d'indépendnace *Yg1/Dw*	
Phénotypes	Effectifs	+	—	Total	χ^2	Probabilité	χ^2	Probabilité
Yg1 Dw	660	*Yg1*	*yg1*					
Yg1 dw	151	811	224	1 035	6,223	0,010-0,025		
yg1 Dw	96	*Dw*	*dw*				123,1	Très faible
yg1 dw	128	756	279	1 035	2,113	0,10-0,20		
Total	1 035							

Taux de recombinaison *Yg1-Dw* = 28,2 ± 1,7.

Dans le tableau ci-dessus, permettant d'établir la distance entre les loci *Yg1* et *Dw*, on voit que la probabilité de conformité aux proportions 3 : 1 est faible pour la ségrégation *Yg1* : *yg1*, meilleure pour la ségrégation *Dw* : *dw*. MATHER (1936) montre que dans un tel cas, l'estimation du taux de recombinaison entre les deux loci, sera meilleure en utilisant la méthode du produit, que celle du maximum de vraisemblance.

La méthode du produit, conduit ici à la valeur 27,6 ± 1,7 unités de recombinaison entre les loci *Yg1* et *Dw*.

Région 2 + 3		Test de disjonction 3 : 1					Test d'indépendance *R1/Ms3*	
Phénotypes	Effectifs	+	—	Total	χ^2	Probabilité	χ^2	Probabilité
R1 Ms3	758	*R1*	*r1*					
R1 ms3	103	861	253	1 114	3,113	0,05-0,10		
r1 Ms3	85	*Ms3*	*ms3*				290,3	Très faible
r1 ms3	168	843	271	1 114	0,269	0,60-0,70		
Total	1 114							

Taux de recombinaison *R1-Ms3* = 19,1 ± 1,1.

Région 1 + 2 + 3		Test de disjonction 3 : 1					Test d'indépendance *R1/Dw*	
Phénotypes	Effectifs	+	—	Total	χ^2	Probabilité	χ^2	Probabilité
R1 Dw	625	*R1*	*r1*					
R1 dw	186	811	224	1 035	6,223	0,010-0,025		
r1 Dw	131	*Dw*	*dw*				28,03	Très faible
r1 dw	93	756	279	1 035	2,113	0,10-0,20		
Total	1 035							

Taux de recombinaison *R1-Dw* = 38,6 ± 2,0.

Là encore, la probabilité de disjonction 3 : 1 d'un des deux loci, *R1*, est faible La méthode du produit conduit à la valeur 38,2 ± 2,0 unités de recombinaison entre les loci *R1* et *Dw*.

2. — *Descendance issue de rétrocroisement de l'hétérozygote* R1 Yg1 Ms3 Dw/r1 yg1 ms3 dw, *par le récessif complet*

Région 1		Test de disjonction 1 : 1					Test d'indépendance *Ms3/Dw*	
Phénotypes	Effectifs	+	—	Total	χ^2	Probabilité	χ^2	Probabilité
Ms3 Dw	543	*Ms3*	*ms3*					
Ms3 dw	292	835	662	1 497	19,99	Très faible		
ms3 Dw	220	*Dw*	*dw*				149,45	Très faible
ms3 dw	442	763	734	1 497	0,562	0,40-0,50		
Total	1 497							

Taux de recombinaison *Ms3-Dw* = 34,2 ± 1,2.

Remarque : dans le tableau ci-dessus, permettant d'établir la distance *Ms3-Dw*, on voit que, si la disjonction au locus *Dw* est bien conforme aux proportions 1 : 1, la probabilité de conformité de celle du locus *Ms3* est très faible. MATHER (1936) propose, dans un tel cas, une méthode d'estimation du taux de recombinaison tenant compte de ce fait. Cette méthode nécessite cependant, de disposer des données de ségrégation en couplage et en répulsion, il ne nous a donc pas été possible d'y recourir.

Région 2		Test de disjonction 1 : 1					Test d'indépendance *Yg1/Ms3*	
Phénotypes	Effectifs	+	—	Total	χ^2	Probabilité	χ^2	Probabilité
Yg1 Ms3	776	*Yg1*	*yg1*					
Yg1 ms3	67	843	668	1 511	20,27	Très faible		
yg1 Ms3	63	*Ms3*	*ms3*				1 035,7	Très faible
yg1 ms3	605	839	672	1 511	18,46	Très faible		
Total	1 511							

Taux de recombinaison *R1-Ms3* = 8,6 ± 0,7.

Région 3		Test de disjonction 1 : 1					Test d'indépendance *R1/Yg1*	
Phénotypes	Effectifs	+	—	Total	χ^2	Probabilité	χ^2	Probabilité
R1 Yg1	690	*R1*	*r1*					
R1 yg1	110	800	729	1 529	3,297	0,05-0,10		
r1 Yg1	155	*Yg1*	*yg1*				652,71	Très faible
r1 yg1	574	845	684	1 529	16,953	Très faible		
Total	1 529							

Taux de recombinaison *R1-Yg1* = 17,3 ± 1,0.

Région 1 + 2		Test de disjonction 1 : 1					Test d'indépendance *Yg1/Dw*	
Phénotypes	Effectifs	+	—	Total	χ^2	Probabilité	χ^2	Probabilité
Yg1 Dw	531	*Yg1*	*yg1*					
Yg1 dw	308	839	658	1 497	21,884	Très faible		
yg1 Dw	232	*Dw*	*dw*				116,16	Très faible
yg1 dw	426	763	734	1 497	0,562	0,40-0,50		
Total	1 497							

Taux de recombinaison *Yg1-Dw* = 36,1 ± 1,2.

Région 2 + 3		Test de disjonction 1 : 1					Test d'indépendance *R1/Ms3*	
Phénotypes	Effectifs	+	—	Total	χ^2	Probabilité	χ^2	Probabilité
R1 Ms3	654	*R1*	*r1*					
R1 ms3	143	797	714	1 511	4,559	0,025-0,050		
r1 Ms3	185	*Ms3*	*ms3*				483,80	Très faible
r1 ms3	529	839	672	1 511	18,457	Très faible		
Total	1 511							

Taux de recombinaison *R1-Ms3* = 21,7 ± 1,1.

Région 1 + 2 + 3		Test de disjonction 1 : 1					Test d'indépendance *R1/Dw*	
Phénotypes	Effectifs	+	—	Total	χ^2	Probabilité	χ^2	Probabilité
R1 Dw	438	*R1*	*r1*					
R1 dw	353	791	706	1 497	4,826	0,025-0,050		
r1 Dw	325	*Dw*	*dw*				13,281	Très faible
r1 dw	381	763	734	1 497	0,562	0,40-0,50		
Total	1 497							

Taux de recombinaison *R1-Dw* = 45,3 ± 1,3.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (1), 35-50.

LA RÉSISTANCE DU PIMENT, *CAPSICUM ANNUUM* L. A *PHYTOPHTHORA CAPSICI* LÉON.

I. — Mise en évidence d'une induction progressive de la résistance

E. POCHARD, M. CLERJEAU* et M. PITRAT
avec la collaboration technique de D. Chambonnet et J. G. Nourrisseau

Station d'Amélioration des Plantes maraîchères,
** Station de Pathologie végétale,*
Centre de Recherches d'Avignon, I. N. R. A.,
Domaine Saint-Paul,
84140 Montfavet

RÉSUMÉ

Grâce à une méthode d'infection sur tiges décapitées, on a comparé la cinétique de l'infection sur un génotype de Piment sensible (« Yolo Wonder ») et un génotype résistant issu de la lignée « 493.1 » de P. G. Smith (« Phyo 636 »). A la température de 22°C, les nécroses progressent sur les tiges de la variété sensible à une vitesse constante jusqu'à la destruction complète des plantes. En revanche, sur la variété résistante, la progression du champignon est progressivement ralentie puis bloquée. Cet arrêt n'intervient qu'à l'issue de laps de temps variables (une à trois semaines) chez des plantes génétiquement semblables. Cette évolution de l'infection indique que le mécanisme de résistance mis en jeu est induit par le parasite. Ce mécanisme, moins actif aux températures élevées, (28°C) se superpose à un autre phénomène qui est responsable d'une variation de la sensibilité en fonction de l'âge des plantes et identique chez les deux variétés. L'efficacité de la résistance varie également selon l'aggressivité de l'isolat de *Phytophthora capsici* mais aucun, parmi ceux que nous avons utilisés, ne s'est montré capable de provoquer des lésions aussi grandes sur la variété résistante que sur la variété sensible.

INTRODUCTION

Phytophthora capsici est l'un des facteurs limitants les plus sérieux des cultures de Piment (« Poivron ») dans le Sud-Est de la France, comme dans beaucoup d'autres régions du Monde (Messiaen et Lafon, 1970).

En 1960, Kimble et Grogan mettent en évidence l'existence de résistances

partielles dans plusieurs introductions appartenant à diverses espèces de *Capsicum*. Parmi celles-ci, la lignée « PI 201.234 » a paru posséder le plus haut niveau de résistance. Il s'agit d'un *Capsicum annuum* de type « Piment-de-Cayenne », provenant d'Amérique centrale. SMITH *et al.* (1967) étudient ce matériel sous le numéro « 493 » et montrent que la résistance est contrôlée par un gène majeur dominant dans certaines lignées (« 493.1 », « 493.4 ») et par deux gènes dominants indépendants dans d'autres (« 493.2 »). Cependant, ces auteurs signalent que les plantes considérées comme résistantes peuvent se flétrir et mourir après un délai très variable suivant les tests. Ce phénomène est mis sur le compte d'autres champignons, dont *Rhizoctonia solani*, qui se trouveraient présents dans le sol malgré les désinfections à la vapeur.

La lignée « 493.1 » a été fournie par P. G. SMITH et enregistrée par nous sous le numéro « PM 217 ». Sa résistance en plein champ a paru suffisante, mais non absolue (POCHARD, 1966). Un programme de rétrocroisements a été entrepris pour incorporer cette résistance à des variétés à gros fruits dont « Yolo Wonder ». Il nous est alors apparu qu'elle n'était que partiellement dominante et d'hérédité complexe (au moins deux ou trois gènes en jeu) (POCHARD et CHAMBONNET, 1971).

Étant donné que des variétés résistantes à gros fruits correspondant aux normes du marché français seront prochainement proposées aux producteurs pour les cultures de serre et de plein champ, il a paru indispensable de préciser les caractéristiques et les limites de la résistance afin d'éviter des erreurs dans son utilisation. C'est pourquoi nous avons entrepris des études sur la formation et l'évolution des lésions produites par le Phytophthora sur les plantes sensibles et résistantes. Cette étude cinétique de l'infection pouvait également permettre une interprétation de l'hétérogénéité de réponse constatée par la plupart des auteurs chez les génotypes homozygotes issus du matériel « 493.1 ».

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. — *Matériel végétal :* Capsicum annuum

Deux lignées de Piment ont été mises en comparaison : « Yolo Wonder » sensible à *Phytophthora capsici* et « Phyo 636 » résistant. Ce dernier est issu du croisement : « 493.1 » × « Yolo Wonder » suivi de trois rétrocroisements par « Yolo Wonder » puis de cinq autofécondations. Il paraît posséder les mêmes caractéristiques de résistance que la lignée « 493.1 » (POCHARD et CHAMBONNET, 1971) tout en étant proche de « Yolo Wonder » par beaucoup de caractères. Il forme cependant des fruits plus petits et plus allongés et les plantes sont de plus grande taille.

Les plants sont élevés sur un mélange de tourbe et de terreau désinfecté à la vapeur. Ils sont placés, dans des godets de 7 cm et rempotés dans des godets de 11 cm après la floraison si nécessaire. Les conditions de milieu sont celles de la serre : température le plus souvent comprises entre 18°C et 28°C, durée du jour variable. Au moment de l'inoculation, les plantes sont généralement transportées en chambre climatisée réglée à 22°C ± 1°, éclairée 12 heures par jour par des ballons fluorescents donnant environ 9 000 lux au niveau des plantes.

Dans les essais consacrés à l'étude de l'effet de la température (16, 22, 28°C), cette dernière oscillait de un degré autour de la valeur indiquée, les autres conditions restant inchangées. L'un des essais, destiné à comparer la virulence de plusieurs souches de *Phytophthora capsici*, a été conduit entièrement en serre pendant le mois de juillet ; dans cette expérience la température a varié entre 18 et 30°C, cette valeur extrême n'étant atteinte que pendant de courtes durées au milieu de la journée.

2. — *Matériel cryptogamique*

Les isolats utilisés dans ce travail ont été déterminés comme *Phytophthora capsici* selon les critères définis par WATERHOUSE dans sa clé de détermination des Phytophthora (1963). Leur étude morphologique a été complétée par celle de leur pouvoir pathogène sur le Piment (hôte sensible exclusivement à *Phytophthora capsici*).

Ces isolats ont diverses origines :

— souches isolées au collet d'aubergines : S 6, 13, 85.
— souches isolées sur piment :
- au collet de variétés sensibles : S 15, 53, 71, 75.
- au collet de plantes de la variété résistante « Phyo 636 » : S 77, 86.

La totalité des isolats provient du Sud-Est de la France, à l'exception de l'isolat S 75 (1) originaire du Liban.

En culture pure, les isolats sont alternativement repiqués sur milieux S et L (MESSIAEN et LAFON, 1970) tous les mois, et maintenus à la température de 22°C en présence de lumière.

3. — *Technique d'infection artificielle*

La majorité des auteurs (SMITH *et al.*, 1967 ; POLLACH et WEBSTER, 1972), contamine les piments en déposant au pied des plantes une suspension d'inoculum (conidies, zoospores, oospores ou broyat mycélien). De telles méthodes d'infection par le sol ne permettent de noter que le flétrissement ou la mort des plantes.

Pour étudier l'évolution des lésions chez les deux lignées, nous avons retenu la méthode mise au point par POCHARD et CHAMBONNET (1971) et utilisée en sélection variétale. Celle-ci permet en effet de suivre, sur chaque plante, la progression de l'infection à partir d'un moment et d'un point connu.

— *L'inoculum.*

L'inoculum est produit sur milieu L, en boîtes de Petri, à 22°C. Dans ces conditions, les colonies contiennent essentiellement du mycélium.

— *L'inoculation.*

Après une semaine d'incubation, on découpe à la périphérie de chaque colonie, des disques de culture pure de 4 mm de diamètre.

Les tiges des plantes sont sectionnées transversalement avec une lame de rasoir, au niveau de la 7e ou 8e feuille, lorsque les plantes sont au début de la phase reproductive, c'est-à-dire du stade « bouton floral de diamètre 1 mm », au stade « floraison de la première fleur ». La longueur des tiges, après décapitation, est généralement comprise entre 200 et 250 mm.

Sur chaque section on dépose un disque d'inoculum, le champignon étant au contact des tissus, puis on entoure l'extrémité de la tige contaminée avec un papier d'aluminium pour éviter la dessiccation.

Dix plantes sont habituellement contaminées pour chaque traitement.

— *Symptômes.*

En progressant dans les tissus, le parasite détermine une nécrose grisâtre à brunâtre typique, bien délimitée. Les tissus les plus anciennement nécrosés se dessèchent et deviennent durs. Les plantes restent vivantes jusqu'à ce que toute la tige soit envahie par la nécrose.

— *Notations.*

Elles consistent à mesurer la longueur des nécroses en millimètre (± 1 mm). Lorsqu'on se propose de comparer le pouvoir pathogène des souches, une seule mesure est effectuée alors que la

(1) Isolat transmis par M. RAVISÉ, O. R. S. T. O. M., Laboratoire de Phytopathologie, Fanar (Liban).

nécrose affecte la presque totalité des tiges de la lignée sensible. Pour étudier la cinétique de l'infection, les mesures sont effectuées tous les trois jours. Les valeurs obtenues permettent une analyse statistique (test de Duncan, analyses de régression).

4. — *Étude de la progression des hyphes du champignon dans la tige, par rapport à celle des formations nécrotiques*

Pour établir la relation existant entre la progression basipète des nécroses et celles des hyphes de *Phytophthora*, nous avons évalué, sur des plantes placées à 25°C, tous les trois jours, les longueurs moyennes des nécroses et les longueurs moyennes de tiges envahies par le champignon. Pour déterminer cette seconde valeur, nous avons coupé les tiges en rondelles de 2 mm d'épaisseur, depuis le point d'inoculation jusqu'à 2 cm sous la limite de la nécrose. Les tronçons de tige ont été mis à incuber en boîtes de Petri sur milieu spécifique (Ponchet *et al.*, 1972). Les isolements positifs de *Phytophthora* ont permis de connaître les limites, sur la tige, entre lesquelles le mycelium était présent. Dix tiges par variété ont été utilisées à chaque prélèvement.

RÉSULTATS

Avant d'entreprendre l'étude de l'évolution des lésions dans les tiges, il a paru indispensable d'effectuer un choix parmi les souches de *Phythophtora capsici* que nous possédions en collection.

1. — *Effet de la nature de la souche sur la longueur de la nécrose*

Neuf souches ont été mises en comparaison, dans deux essais : l'un en chambre de culture réglée à 22°C (essai A), l'autre en serre à température variable (18 à 30°C) (essai B). La mensuration des lésions a été effectuée lorsqu'elles avaient atteint environ les trois quarts de la tige chez la variété sensible « Yolo Wonder », c'est-à-dire 15 jours (essai A) et 6 jours (essai B) après l'inoculation. Les résultats sont reportés sur la figure 1.

Dans tous les cas, les lésions sont plus limitées chez la variété résistante « Phyo-636 » que chez la variété sensible « Yolo Wonder ». L'effet du génotype de la plante hôte est donc l'effet principal. Il existe cependant des différences importantes entre souches, significatives au niveau 1 p. 100 dans chacun des essais et sur chacune des variétés (*essai A :* F = 11,9 et 11,8 pour 24 degrés de liberté : *essai B :* F = 23,1 et 22,0 pour 40 degrés de liberté, « Yolo Wonder » et « Phyo 636 » étant cités successivement). Il n'est pas possible d'analyser simultanément les résultats obtenus chez les deux variétés car les variances ne sont pas homogènes : la variété résistante a toujours une variance entre plantes significativement supérieure à celle de la variété sensible. Pour les essais A et B, on trouve ainsi des coefficients de variation de 6,0 et 4,6 p. 100 chez « Yolo Wonder », de 25,5 et 26,6 p. 100 chez « Phyo 636 ».

Pour étudier plus en détail le phénomène de résistance, nous avons choisi deux souches considérées comme caractéristiques, l'une, S 75, permettant une très bonne discrimination à 22°C entre génotypes résistants et sensibles (rapport R/S = 0,24), l'autre, S 77, donnant au contraire des lésions de grande taille chez les résistants (R/S = 0,50).

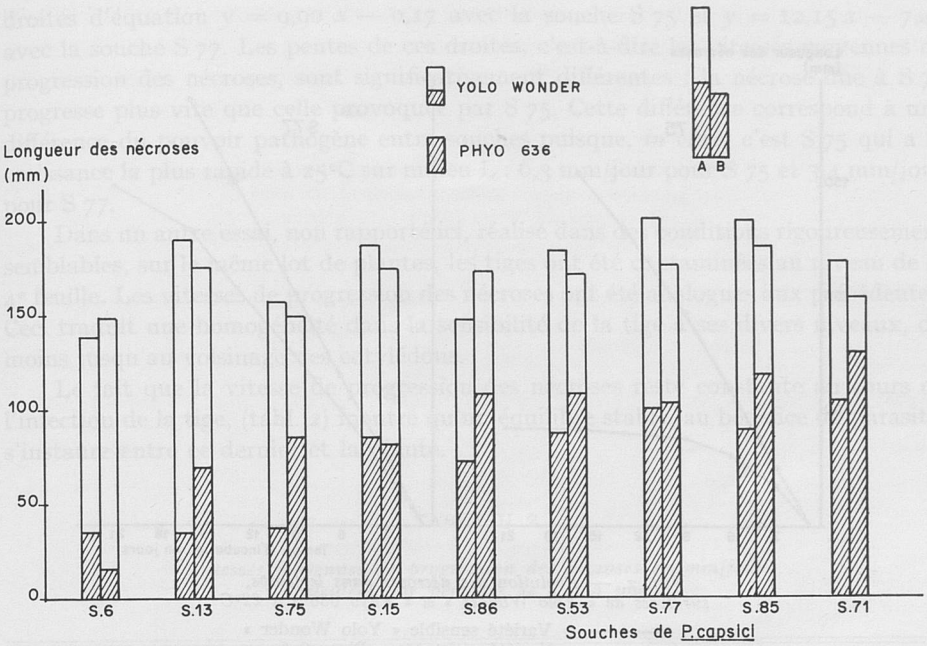


FIG.. 1 — *Comparaison des longueurs des lésions sur les tiges de la variété résistantes « Phyo 636 »* (R) *et de la variété sensible « Yolo Wonder »* (S) *en fonction de la souche de* Phytophtora capsici

Neuf souches, classées par pouvoir pathogène croissant sur la variété résistante ; deux essais réalisés dans des conditions physiques très différentes, « A » : en chambre de culture à 22°C ; « B » : en serre, au mois de juillet, la température variant entre 18 et 30°C. Le rapport R/S exprime la longueur relative de la lésion chez la variété résistante par rapport à la variété sensible, dans chacun des essais. Comparaison des souches de *Phytophtora capsici* (test de Duncan) : *a, b, c, d* classes de signification, au seuil 5 p. 100, par longueurs de lésions croissantes, dans chacun des essais et sur chacune des variétés :

Souches	6	13	75	15	86	53	77	85	71
Y. W. (A)	*a*	*cd*	*b*	*cd*	*ab*	*c*	*d*	*d*	*c*
Y. W. (B)	*a*	*cd*	*a*	*c*	*c*	*c*	*cd*	*d*	*b*
Phyo 636 (A)	*a*	*a*	*a*	*bc*	*b*	*bc*	*c*	*bc*	*c*
Phyo 636 (B)	*a*	*b*	*bc*	*b*	*cd*	*cd*	*cd*	*fd*	*d*
R/S (A)	0,25	0,18	0,24	0,45	0,49	0,47	0,50	0,44	0,58
R/S (B)	0,11	0,39	0,57	0,47	0,62	0,63	0,58	0,63	0,82

2. — *Évolution des lésions sur les tiges, durant les trois premières semaines*

Nous avons étudié, à la température de 22°C, la progression des nécroses en fonction du temps, chez des plantes de la variété « Yolo Wonder » (sensible) et de la variété « Phyo 636 » (résistante), contaminées par les souches S 75 et S 77.

a) *Comportement de la variété sensible.*

Sur « Yolo Wonder » les souches S 75 et S 77 déterminent une nécrose dont la longueur est une fonction linéaire du temps (fig. 2). Cette linéarité est significative (tabl. 1).

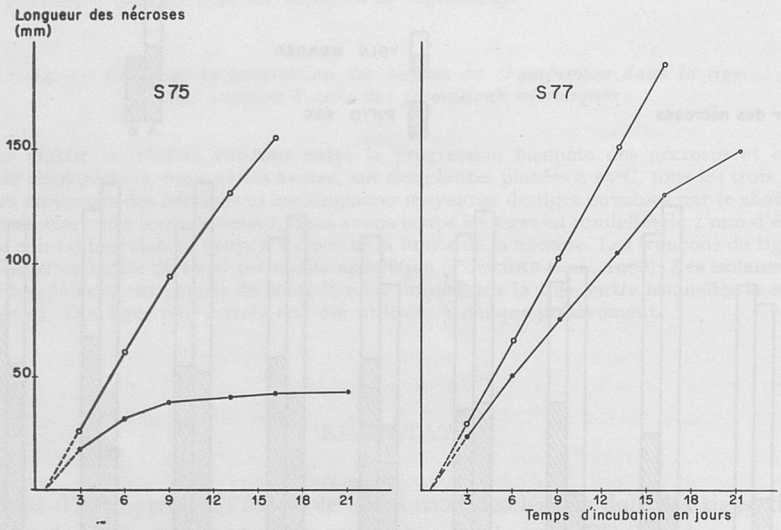


FIG. 2. — *Évolution des nécroses dans le temps, sur tiges de « Yolo Wonder » et « Phyo 636 » à 22°C*

○———○ Variété sensible « Yolo Wonder »
●———● Variété résistante « Phyo 636 »

TABLEAU I

Analyse de variance de la régression de la longueur de la nécrose par rapport au temps d'incubation chez « Yolo Wonder »

Souches	Origine de la variation	Degrés de libertés	Variance	F calculé	F théorique (1 %)
Souche S 75	Effet dates de mesure	4	26 968,97	294,19	3,77 HS (1)
	— Régression linéaire	1	107 236,90	1 169,82	7,22 HS
	Erreur	45	91,66		
	TOTAL	49			
Souche S 77	Effet dates de mesure	4	40 364,93	2 732,27	3,77 HS
	— Régression linéaire	1	161 456,58	10 892,87	7,22 HS
	Erreur	45	14,82		
	TOTAL	49			

(1) HS : hautement significatif.

Entre le 3e et le 21e jour, l'évolution des nécroses peut être représentée par des droites d'équation $y = 9{,}90\ x - 0{,}17$ avec la souche S 75 et $y = 12{,}15\ x - 7{,}45$ avec la souche S 77. Les pentes de ces droites, c'est-à-dire les vitesses moyennes de progression des nécroses, sont significativement différentes : la nécrose due à S 77 progresse plus vite que celle provoquée par S 75. Cette différence correspond à une différence du pouvoir pathogène entre souches puisque, *in vitro*, c'est S 75 qui a la croissance la plus rapide à 25°C sur milieu L : 6,3 mm/jour pour S 75 et 3,4 mm/jour pour S 77.

Dans un autre essai, non rapporté ici, réalisé dans des conditions rigoureusement semblables, sur le même lot de plantes, les tiges ont été contaminées au niveau de la 4e feuille. Les vitesses de progression des nécroses ont été analogues aux précédentes. Ceci traduit une homogénéité dans la sensibilité de la tige à ses divers niveaux, du moins jusqu'au voisinage des cotylédons.

Le fait que la vitesse de progression des nécroses reste constante au cours de l'infection de la tige, (tabl. 2) montre qu'un équilibre stable, au bénéfice du parasite, s'instaure entre ce dernier et la plante.

TABLEAU 2

Vitesses moyennes de progression des nécroses en mm/jour calculées par périodes de 3 à 5 jours

Variétés	Souches	0-3 jours		3-6 jours	6-9 jours	9-13 jours	13-16 jours	16-21 jours
		a	*b*					
« Yolo Wonder »	S 75	8,50	11,66	11,67	11,13	9,22	7,80	
	S 77	9,73	12,13	12,13	11,97	12,27	12,23	
« Phyo 636 »	S 75	6,00	8,23	4,27	2,60	0,40	0,60	0,24
	S 77	7,90	9,84	9,00	7,77	7,67	8,47	3,94

La vitesse au cours des 3 premiers jours a été calculée après une détermination arbitraire du moment origine des nécroses :

a : en fixant l'origine à l'heure d'inoculation ;

b : en fixant cette origine à l'intersection des courbes d'évolution des nécroses sur « Yolo Wonder » entre 3 et 6 jours, avec l'axe des temps. Cette intersection (fig. 2) correspond après calcul à 19 h 30 avec S 75 et à 14 h 15 avec S 77.

b) *Comportement de la variété résistante.*

La nécrose produite sur les tiges de la variété « Phyo 636 » par la souche S 75 progresse rapidement au cours des 2 ou 3 premiers jours, puis sa vitesse diminue et tend vers zéro à partir de 10-11 jours (fig. 2 et tabl. 2). En fait, il ne s'agit ici que de valeurs moyennes car toutes les plantes ne réagissent pas de la même manière au même moment : la stabilisation de la nécrose (vitesse nulle de progression) n'inter-

vient pas en même temps chez toutes les plantes. Chez certaines elle se situe au 6e jour ; chez d'autres, au 21e jour après l'inoculation. Cette hétérogénéité de réponse se traduit par un coefficient de variation élevé, compris entre 25 p. 100 et 36 p. 100, alors que chez « Yolo Wonder » le même coefficient ne dépasse pas 12 p. 100 (tabl. 3).

TABLEAU 3

Coefficient de variation de la longueur de la nécrose, en fonction du temps après l'inoculation

(exprimé en pourcentage)

Variétés	Souches	3 jours	6 jours	9 jours	13 jours	16 jours	21 jours
« Yolo Wonder »	S 75	12	6	5	7	11	
	S 77	6	2	3	2	3	
« Phyo 636 »	S 75	25	27	34	35	36	34
	S 77	14	9	11	15	14	19

La souche S 77 provoque chez « Phyo 636 » une réaction différente : la nécrose progresse avec une vitesse élevée et constante pendant beaucoup plus longtemps qu'avec la souche S 75. La vitesse ne diminue que vers le 16e jour (fig. 2 et tabl. 2). Le coefficient de variation (9 à 19 p. 100), plus faible que précédemment, indique une réponse plus homogène des plantes, mais il a tendance à augmenter après le 16e jour, c'est-à-dire au moment où la vitesse moyenne de progression de la nécrose diminue. On retrouve alors le même type de comportement qu'avec la souche S 75 c'est-à-dire un manque de synchronisme entre plantes dans la manifestation de la résistance.

Parmi ces résultats, le phénomène le plus intéressant est la diminution de vitesse des nécroses qui est l'expression quantitative de la résistance des plantes. Les courbes représentées sur la figure 2 (« Phyo 636 » contaminé par S 75 et S 77) traduisent clairement que la résistance ne se manifeste pas brutalement et instantanément dès le début de l'infection mais qu'elle est induite progressivement par le parasite et de façon plus ou moins intense selon la souche qui a pénétré.

3. — *Relation entre la croissance des hyphes et l'extension des lésions*

Après avoir montré que la résistance de « Phyo 636 » est en liaison avec la réduction de vitesse d'extension des nécroses, il était important de préciser les relations existant entre la progression des nécroses et la croissance des hyphes dans les tissus.

Les mesures effectuées indiquent que l'extension des nécroses est déterminée par la progression du mycélium dans les tiges (tabl. 4).

Chez la variété « Yolo Wonder », le front de croissance du champignon précède le front d'avancement des nécroses d'environ 3 mm (2,4-3,6 mm). Compte tenu de la

vitesse de progression de ces dernières, il semble que la nécrose des cellules intervienne 5 à 8 heures après leur infection. Cette nécrose détermine plus tard la mort des hyphes puisque dans les premières portions de tiges envahies, les isolements restent négatifs.

TABLEAU 4

Croissance comparée du mycélium et des nécroses dans les tiges contaminées par la souche S 75

Variétés	3 jours		6 jours		9 jours		12 jours	
	Ln	Ll	Ln	Ll	Ln	Ll	Ln	Ll
« Yolo Wonder »	35,6	0-39,0	50,6	10,6-53,2	36,7	29,7-39,1	136,5	62,9-140,1
« Phyo 636 »	10,2	0-10,2	14,0	4,1-15,7	14,5	6,3-14,9	20,2	8,9-20,4

Ln : Longueurs moyennes des nécroses en mm.
Ll : Longueurs limites entre lesquelles on isole le champignon.

Chez la variété « Phyo 636 », l'écart qui sépare les fronts d'avancement respectifs du mycélium et des nécroses est compris entre 0 et 1,7 mm (moyenne 0,58 mm), donc beaucoup plus réduit que chez la variété sensible.

Une étude plus fine serait nécessaire pour déterminer si la réaction nécrotique des cellules à l'infection est plus rapide que chez « Yolo Wonder ». Cependant cette réponse des plantes par la mort des cellules ne paraît pas déterminante dans la résistance : en survenant après l'invasion des cellules, elle ne peut être responsable du ralentissement progressif de la croissance du parasite dans les tiges sinon de façon indirecte.

Chez les deux variétés, l'évolution de la réaction nécrotique avec le temps est représentative de la croissance du champignon dans la tige. La réduction de vitesse d'avancement des nécroses constatée de façon typique chez la variété résistante « Phyo 636 » correspond donc à un processus de blocage du Phytophthora. Ce ralentissement est souvent associé à un changement d'aspect du front de nécrose (teinte jaune-brunâtre, dessèchement des tissus).

4. — *Influence de la température sur la résistance*

Nous avons vu, dans les essais consacrés à la comparaison des aptitudes pathogènes des souches de *Phytophthora capsici*, que les vitesses moyennes de progression variaient selon les conditions ambiantes. Ainsi, chez « Yolo Wonder », les lésions produites en serre en 6 jours atteignaient la même longueur que celles produites en 15 jours en chambre de culture à 22°C. De plus, les longueurs relatives des nécroses des plantes résistantes, par rapport aux sensibles $\left(\frac{R}{S}\right)$, étaient toujours plus impor-

tantes (à une exception près) sous serre, ce qui paraissait traduire une moindre résistance de « Phyo 636 » dans ces conditions. L'action de la température sur la résistance nous a donc paru un facteur important à étudier. Pour cela, nous avons suivi l'infection de lots de plantes de chaque variété, contaminées par les souches S 75 et S 77, placées en chambres de cultures réglées respectivement à 16, 22, 28°C c'est-à-dire des températures auxquelles sont soumises fréquemment les cultures de Piment.

a) *Comportement de la variété sensible.*

A chaque température étudiée, la longueur des nécroses est une fonction linéaire, du temps. Les vitesses de progression sont toujours constantes durant l'infection mais elles augmentent significativement lorsque la température s'élève (fig. 3 et tabl. 5).

L'interaction hôte sensible-parasite n'est donc modifiée que quantitativement par la température.

TABLEAU 5

Influence de la température sur la vitesse de progression des nécroses produites par les souches S 75 et S 77 chez les tiges de « Yolo Wonder »

Souches	16°C		22°C		28°C	
	V	IC	V	IC	V	IC
S 75	7,8	7,3-8,3	9,9	9,3-10,5	15,6	14,8-16,3
S 77	9,8	9,6-10,0	12,1	11,9-12,4	17,6	17,2-17,9

V : Vitesse en mm/j.
IC : Intervalle de confiance au seuil de probabilité 5 p. 100.

TABLEAU 6

Valeur du Q 10 pour la vitesse de progression du front de nécrose, chez la variété « Yolo Wonder », contaminée par les souches S 75 et S 77

Souches	Δt	
	16-22°C	22-28°C
S 75	1,49	2,13
S 77	1,42	1,87

Δt : intervalles de température en degrés Celsius.

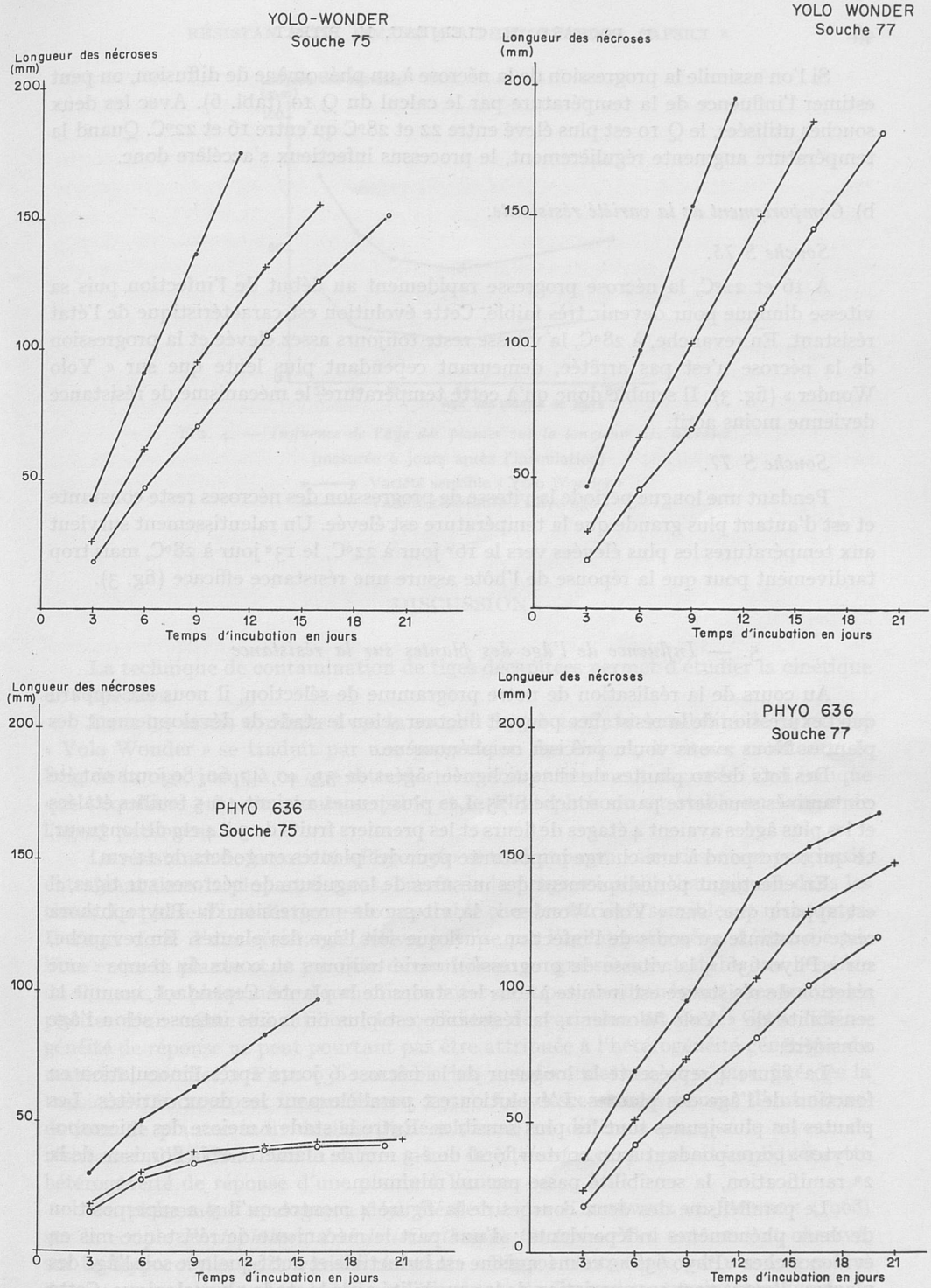


FIG. 3. — *Progression de la nécrose de la tige en fonction de la température chez « Yolo Wonder » et « Phyo 636 » contaminées par* Phytophthora capsici (souche 75 ou 77)

○——○ 16°C +——+ 22°C ●——● 28°C

Si l'on assimile la progression de la nécrose à un phénomène de diffusion, on peut estimer l'influence de la température par le calcul du Q 10 (tabl. 6). Avec les deux souches utilisées, le Q 10 est plus élevé entre 22 et 28°C qu'entre 16 et 22°C. Quand la température augmente régulièrement, le processus infectieux s'accélère donc.

b) *Comportement de la variété résistante.*

Souche S 75.

A 16 et 22°C, la nécrose progresse rapidement au début de l'infection puis sa vitesse diminue pour devenir très faible. Cette évolution est caractéristique de l'état résistant. En revanche, à 28°C, la vitesse reste toujours assez élevée et la progression de la nécrose n'est pas arrêtée, demeurant cependant plus lente que sur « Yolo Wonder » (fig. 3). Il semble donc qu'à cette température, le mécanisme de résistance devienne moins actif.

Souche S 77.

Pendant une longue période la vitesse de progression des nécroses reste constante et est d'autant plus grande que la température est élevée. Un ralentissement survient aux températures les plus élevées vers le 16e jour à 22°C, le 13e jour à 28°C, mais trop tardivement pour que la réponse de l'hôte assure une résistance efficace (fig. 3).

5. — *Influence de l'âge des plantes sur la résistance*

Au cours de la réalisation de notre programme de sélection, il nous est apparu que l'expression de la résistance pouvait fluctuer selon le stade de développement des plantes. Nous avons voulu préciser ce phénomène.

Des lots de 10 plantes de chaque lignée, âgées de 33, 40, 47, 60, 89 jours ont été contaminés sous serre par la souche S 75. Les plus jeunes avaient 4 à 5 feuilles étalées et les plus âgées avaient 4 étages de fleurs et les premiers fruits de 3 à 4 cm de longueur, ce qui correspond à une charge importante pour des plantes en godets de 11 cm.

En effectuant périodiquement des mesures de longueurs de nécroses sur tiges, il est apparu que, sur « Yolo Wonder », la vitesse de progression du Phytophthora reste constante au cours de l'infection, quel que soit l'âge des plantes. En revanche, sur « Phyo 636 », la vitesse de progression varie toujours au cours du temps : une réaction de résistance est induite à tous les stades de la plante. Cependant, comme la sensibilité de « Yolo Wonder », la résistance est plus ou moins intense selon l'âge considéré.

La figure 4 représente la longueur de la nécrose 6 jours après l'inoculation en fonction de l'âge des plantes. L'évolution est parallèle pour les deux variétés. Les plantes les plus jeunes sont les plus sensibles. Entre le stade « meiose des microsporocytes » correspondant à un bouton floral de 2-3 mm de diamètre et la floraison de la 2e ramification, la sensibilité passe par un minimum.

Le parallélisme des deux courbes de la figure 4 montre qu'il y a superposition de deux phénomènes indépendants : d'une part le mécanisme de résistance mis en évidence chez « Phyo 636 » ; ce mécanisme est inductible et actif quelque soit l'âge des plantes, d'autre part, une variation de la sensibilité avec le stade physiologique. Cette variation se manifeste parallèlement chez « Phyo 636 » et « Yolo Wonder ».

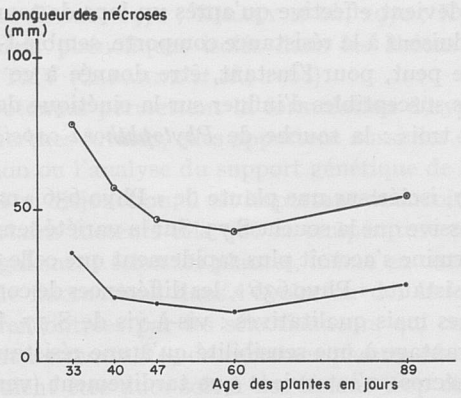


FIG. 4. — *Influence de l'âge des plantes sur la longueur des nécroses*
(mesurée 6 jours après l'inoculation)
Variété sensible « Yolo Wonder »
Variété résistante « Phyo 636 »

DISCUSSION

La technique de contamination de tiges décapitées permet d'étudier la cinétique de l'infection.

Dans les essais conduits avec la souche S 75 à 22°C, la sensibilité de la variété « Yolo Wonder » se traduit par une progression des lésions, à vitesse constante, le long de la tige, jusqu'à ce que cette dernière soit entièrement nécrosée. Ceci indique que l'équilibre entre la plante sensible et le Phytophthora est stable en faveur de l'agent pathogène.

La résistance de la variété « Phyo 636 » se traduit par un ralentissement progressif, entraînant dans la plupart des cas, l'arrêt de la progression du champignon dans les tissus. La phase d'installation est comparable chez les variétés sensibles et résistantes. Il s'agit donc d'une résistance active, induite par l'agent pathogène. L'état d'équilibre entre la plante et le parasite devient donc progressivement stable, au bénéfice du Piment. Le phénomène d'induction n'intervient pas simultanément chez toutes les plantes d'un même échantillon ; le coefficient de variation est élevé. Cette hétérogénéité de réponse ne peut pourtant pas être attribuée à l'hétérogénéité génétique du matériel ; en effet, « Phyo 636 » a subi cinq autofécondations et a paru fixé dès la troisième (POCHARD et CHAMBONNET, 1971). Les descendances issues d'autofécondations de plantes individuelles (lignées sœurs) ne diffèrent pas par le niveau de résistance. C'est donc bien la nature même de la résistance qui paraît impliquer cette hétérogénéité de réponse d'une plante à l'autre.

Un phénomène analogue a déjà été décrit par KLISIEWICZ et JOHNSON (1968) sur le couple *Phytophthora dechsleri-Carthamus tinctorius*. Ces auteurs ont observé, sur les hypocotyles de la variété résistante « Biggs » contaminés par une suspension de zoospores, la formation de lésions nécrotiques de dimensions très inégales (de deux à plusieurs dizaines de cellules).

La résistance ne devient effective qu'après un laps de temps variable : la suite d'événements qui conduisent à la résistance comporte, semble-t-il, une part aléatoire. Aucune explication ne peut, pour l'instant, être donnée à ce phénomène.

Parmi les facteurs susceptibles d'influer sur la cinétique de la nécrose des tiges, nous en avons étudié trois : la souche de *Phytophthora capsici*, la température et l'âge des plantes.

— La souche S 77, isolée sur une plante de « Phyo 636 » naturellement infectée, est beaucoup plus agressive que la souche S 75. Sur la variété sensible « Yolo Wonder », la nécrose qu'elle détermine s'accroît plus rapidement que celle que l'on observe avec S 75. Sur la variété résistante « Phyo 636 », les différences de comportement sont non seulement quantitatives mais qualitatives : vis-à-vis de S 77, la réaction de « Phyo 636 » s'apparente d'avantage à une sensibilité qu'à une résistance ; le phénomène de ralentissement de la nécrose n'intervient que tardivement (vers le 16e jour à 22°C) c'est-à-dire après un envahissement considérable de la tige. Ces différences notables entre souches pourraient résulter d'une variabilité dans l'aptitude inductrice des souches ou d'une sensibilité différentielle à certains composés antifongiques que pourraient synthétiser les plantes résistantes.

— L'augmentation de la température de 16° à 28°C, entraîne chez la variété « Yolo Wonder » une augmentation de la sensibilité. Chez la variété « Phyo 636 », l'efficacité de la résistance vis-à-vis de la souche S 75, est sérieusement altérée à haute température (28°C).

— La résistance induite de « Phyo 636 » n'est pas affectée par l'âge des plantes du moins dans les limites que nous avons étudiées. Cependant, une variation globale de sensibilité en fonction de l'âge que l'on peut mettre aussi en évidence, chez « Yolo Wonder », se superpose à la résistance génétique. Il résulte de ce phénomène une résistance apparente plus faible chez « Phyo 636 » à certains stades.

D'après les résultats acquis, il semble qu'on puisse rapprocher le type de résistance de « Phyo 636 » du phénomène d'hypersensibilité : la réponse de l'hôte est induite par le parasite, après une phase de croissance active ; elle s'exprime moins bien aux températures élevées ; les formations nécrotiques ne paraissent pas directement associées au blocage du champignon. Cet arrêt est vraisemblablement en relation avec la constitution de barrières dans les cellules non infectées.

Ces divers aspects de la résistance présentent des analogies avec le phénomène d'hypersensibilité du Tabac, *Nicotiana xanthi* vis-à-vis du virus de la Mosaïque du Tabac (Martin et Gallet, 1966). Chez *Nicotiana xanthi* la résistance est due à un blocage, d'origine encore mal connue, de la réplication virale dans les cellules saines entourant les lésions nécrotiques. Chez de nombreuses plantes cultivées infectées par des Phytophthora, des substances antifongiques synthétisées *de novo* ont pu être isolées. Parmi ces substances les phytoalexines ont été particulièrement étudiées : l'hydroxyphaseolline chez les variétés de Soja résistantes à *Phytophthora megasperma* var. *sojae* (Keen, 1971), la rishitine dans les tubercules de Pommes de terre résistants à *Phytophthora infestans* (Varns *et al.*, 1971), le safynol chez les variétés de Carthame résistantes à *Phytophthora drechsleri* (Thomas et Allen, 1970). Chez le Piment, une phytoalexine, le capsidiol, a déjà été mise en évidence au niveau des fruits infectés par divers champignons non pathogènes (Stoessl *et al.*, 1972), mais aucune recherche n'a été effectuée au niveau des tiges ou du collet. Le rôle de telles substances de nature phénolique est cependant contesté aujourd'hui en tant que seules

causes de la résistance (DALY, 1972 ; KIRALY *et al.*, 1972 ; KUĆ, 1972) de la même façon que les composés phénoliques isolés dans les lésions locales de *Nicotiana xanthi* infecté par le TMV (CABANNE *et al.*, 1968).

Si les données obtenues permettent la formulation d'hypothèses théoriques, à vérifier dans des recherches futures, elles apportent aussi des éléments utiles pour la conduite de la sélection ou l'analyse du support génétique de la résistance. En effet, pour trier un matériel en disjonction, il est important de savoir que la résistance peut être modifiée par certains facteurs tels que la température ou l'âge des plantes et qu'elle s'exprime inégalement selon les plantes, même en conditions contrôlées. Les nombreuses causes de fluctuations dans l'évolution des lésions peuvent expliquer certaines difficultés rencontrées par les sélectionneurs qui contaminent les plantes par le sol, notamment les mortalités de certaines plantes résistantes en fin d'essais. Ces mortalités pourraient être dues soit à des lésions trop étendues au niveau du collet (températures élevées, souches trop agressives, induction trop tardive de la résistance) soit à des lésions trop nombreuses si le taux d'inoculum apporté est excessif.

Reçu pour publication en février 1975.

REMERCIEMENTS

Les auteurs expriment leurs remerciements à MM. P. DOMMERGUES, C. MARTIN et J. PONCHET pour les suggestions et remarques qu'ils ont formulées sur ce travail. Elles ont été une aide précieuse pour sa rédaction définitive.

SUMMARY

RESISTANCE OF THE PEPPER, *CAPSICUM ANNUUM* L., TO *PHYTOPHTHORA CAPSICI*.
I. — EVIDENCE FOR A PROGRESSIVE INDUCTION IN THE STEM OF THE PLANTS

Resistance to *Phytophthora capsici* issued from a « Cayenne » type (« line 493-1 », P. G. SMITH, 1968) was transferred to a big fruited line « Phyo 636 ». This line is compared to « Yolo Wonder », susceptible to *Phytophthora capsici*.

The stem is transversally cut above the seventh-eighth expanded leaf and inoculated by a disc of mycelium produced on an agar medium. After a latency time of about 18 hours, necrosis of the stem becomes apparent on the section and the length of the killed portion can be measured at regular intervals.

In the susceptible variety, the speed of progression is constant during all the studied period (3 weeks) : about 1 cm per day at 22°C. In the resistant line, the speed, wich is not very different up to the third day, is then progessively lowered to less than 1 mm per day. Plants of the same genetical origin do not react simultaneously : the stopping of the fungus growth may appear from the sixth to the twentieth day.

Besides expression of the resistance is dependent on temperature (no stopping of the fungus above 28°C) and on the stage of the plants (resistance is less effective in the young plants and, perhaps, in the old plants).

At 22°C, the resistant line is not able to stop the invasion of some strains. But these are not so aggressive on the resistant line than on the susceptible one.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

CABANNE F., SCALLA R., MARTIN C., 1968. Activité de la polyphénoloxydase au cours de la réaction d'hypersensibilité chez *Nicotiana xanthi* n. c. infecté par le virus de la Mosaïque du Tabac. *Ann. Physiol. vég.*, **10** (3), 199-208.

DALY J. M., 1972. The use of near-isogenic lines in biochemical studies of the resistance of Wheat to Stem Rust. *Phytopathology*, **62** (4), 392-400.

KEEN N., 1971. Hydroxyphaseollin production by soybeans resistant and susceptible to *Phytophthora megasperma* var. *sojae*. *Physiol. Plant Pathol.*, **1**, 265-274.

KIMBLE K. A., GROGAN R. G., 1960. Resistance to *Phytophthora* root rot in peppers. *Plant Dis. Rep.*, **44** (11), 872-873.

KIRALY Z., BARNA B., ERSEK T., 1972. Hypersensitivity as a consequence, not the cause of plant resistance to infection. *Nature*, **239**, 456-458.

KLISIEWICZ J. M., JOHNSON L. B., 1968. Host-parasite relationship in Safflower resistant and susceptible to *Phytophthora* root rot. *Phytopathology*, **58** (7), 1022-1025.

KUĆ J., 1972. Phytoalexins. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **10**, 207-232.

MARTIN C., GALLET M., 1966. Nouvelles observations sur le phénomène d'hypersensibilité aux virus chez les végétaux. *C. R. Acad. Sci.*, Fr., **263**, 1316-1318.

MESSIAEN C. M., LAFON R., 1970. *Les maladies des plantes maraîchères*, I. N. R. A., Paris, 387-388.

POCHARD E., 1966. Données expérimentales sur la sélection du Piment (*Capsicum annuum* L.). *Ann. Amélior. Plantes*, **16** (2), 185-197.

POCHARD E., CHAMBONNET D., 1971. Méthodes de sélection du Piment pour la résistance au *Phytophthora capsici* et au Virus du Concombre. *Eucarpia*, Meeting on genetics and breeding of *Capsicum*, Torino, 1971. *Ann. Fac. Sci. agr. Univ.* Torino, **7**, 270-281.

POLACH F. J., WEBSTER R. K., 1972. Identification of strains and inheritance of pathogenicity in *Phytophthora capsici*. *Phytopathology*, **62** (1), 20-26.

PONCHET J. *et al.*, 1972. Méthodes sélectives d'isolement du *Phytophthora nicotianae* f. sp. *parasitica* (DASTUR) WATERH. à partir du sol. *Ann. Phytopathol.*, **4** (2), 97-108.

SMITH P. G., *et al.*, 1967. Inheritance of resistance in peppers to Phytophthora root rot. *Phytopathology*, **57** (4), 377-379.

STOESSL A., UNWIN C. H., WARD E. W. B., 1972. Postinfectional inhibitors from plants. I. Capsidiol, an antifungal compound from *Capsicum frutescens*. *Phytopath. Z.*, **74**, 141-152.

THOMAS C. A., ALLEN E. H., 1970. Concentration of safynol in *Phytophthora*-infected Safflower. *Phytopathology*, **60** (7), 1153.

VARNS J., KUĆ J., WILLIAMS E., 1971. Terpenoid accumulation as a biochemical response of the Potato tuber to *Phytophthora infestans*. *Phytopathology*, **61** (2), 174-177.

WATERHOUSE G. M., 1963. Key to the species of *Phytophthora* DE BARY. *Mycol. Pap.*, (92), 1-22.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (1), 51-66.

VARIABILITÉ GÉNÉTIQUE DE LA COMPOSITION DES GLIADINES, GLUTÉNINES, β-AMYLASES, α-ESTERASES, PEROXYDASES ET PHOSPHATASES ACIDES DU BLÉ (*T. AESTIVUM*) [1]

P. AURIAU [2], J. C. AUTRAN [3], L. CHARBONNIER [4], G. DOUSSINAULT [5], P. FEILLET [6], B. GODON [7], P. GRIGNAC [8], P. JOUDRIER [3], K. KOBREHEL [6], J. KOLLER [9], M. ROUSSET [10] et S. RIVALLANT [6]

RÉSUMÉ

La composition protéique (gliadines, gluténines) et enzymatique (β-amylases, α-estérases, peroxydases et phosphatases acides) de 39 variétés de blé tendre (*T. aestivum*) a été comparée par électrophorèse en gel d'amidon (pH = 3,2) ou de polyacrylamide (pH = 3,2 et 8,6). Les électrophorégrammes, à l'exception de ceux des gluténines réduites, ne sont pas modifiés par les conditions de développement de la plante. On a dénombré respectivement 1, 2, 6 et 7 types de diagrammes α-estérasiques, peroxydasiques (A et B), β-amylasiques (I à VI) et phosphatasiques (1 à 7) et confirmé la grande hétérogénéité des gliadines et des gluténines réduites. On montre que dans les rares cas où l'électrophorèse des gliadines ne permet pas d'identifier avec certitude une variété de blé, l'analyse de certaines enzymes permet de lever toute ambiguité. Néanmoins, on n'observe pas de relation entre la composition enzymatique et la parenté génétique des variétés de blé analysées ; la validité de la méthode d'analyse des gliadines utilisée semble par contre assurée pour de telles études.

I. — INTRODUCTION

L'étude de la variabilité génétique de la composition protéique ou enzymatique des blés, qui a connu un grand essor au cours des 15 dernières années avec le développement de l'électrophorèse en gel d'amidon ou de polyacrylamide, répond à des

[1] Travail réalisé dans le cadre du groupe de travail I. N. R. A. « Biochimie-Génétique ». Responsable : P. FEILLET.

[2] Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes. Versailles.
[3] Laboratoire de Recherche sur la Qualité des Blés. Paris.
[4] Laboratoire des Protéines et Acides Aminés. Versailles.
[5] Station d'Amélioration des Plantes. Rennes.
[6] Laboratoire de Technologie des Blés durs et du Riz. Montpellier.
[7] Laboratoire de Contrôle et de Technologie des Blés. Paris.
[8] Station d'Amélioration des Plantes. Montpellier.
[9] Station d'Amélioration des Plantes. Dijon.
[10] Station d'Amélioration des Plantes. Clermont-Ferrand.

besoins multiples : marquage biochimique des génomes, des chromosomes et des gènes ; recherche de parenté génétique entre variétés ou espèces différentes et définition d'indices de similarité ; identification de l'origine des génomes et caractérisation des variétés ; connaissance du déterminisme génétique de la composition biochimique et de la qualité technologique ou agronomique des blés ; mises au point de microtests biochimiques d'appréciation de la qualité, basés sur des relations directes (fonctionnelles) ou indirectes (marquage génétique) entre composition et qualité.

De telles études nécessitent la mise en œuvre de méthodes d'analyse des protéines et des enzymes dont la validité (résultats ne dépendant que du génotype des échantillons) et l'utilité (marquage génétique ; marquage de la qualité) doivent être assurées. Le travail rapporté dans ce mémoire, qui représente la première étape d'une étude que nous avons entreprise sur ce problème, consiste en une comparaison de la composition électrophorétique des gliadines, gluténines réduites, β-amylases, α-estérases, peroxydases et phosphatases acides extraites des mêmes échantillons de blé tendre (*T. aestivum*).

II. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. — *Matériel végétal*

Les blés tendres examinés, de caractéristiques génétiques et culturales définies, constituent trois séries d'échantillons :

— une série A de 21 échantillons composée de 7 variétés de blé tendre (« Capitole », « Cappelle » « Champlein », « Hardi », « Joss », « Kolibri », et « Moisson ») cultivées en trois lieux différents (Dijon, Montpellier, Rennes).

— une série B de 20 échantillons composée de 5 variétés de blé tendre (« Capitole », « Étoile de Choisy », « Heima », « Joss » et « Splendeur ») cultivées dans des conditions normales ou comprenant, soit un traitement fongicide précoce (début de montaison) soit deux traitements fongicides tardifs (dernière feuille pointante et épiaison) soit un traitement au CCC à la montée et un apport d'azote au tallage dans le but d'obtenir une culture étouffée.

— une série C de 39 variétés de blé tendre, d'origine française ou étrangère.

Tous les blés ont été récoltés à maturité et conservés en chambre froide à 4°C.

2. — *Préparation des échantillons*

Les analyses sont faites sur grains broyés ou sur les farines obtenues par mouture des blés avec un moulin Brabender Junior (taux d'extraction : 58 à 65 p. 100).

3. — *Extraction et fractionnement des gliadines*

Les gliadines, directement extraites de 1 gramme de grain broyé par contact pendant une nuit avec 3 ml d'une solution à 25 p. 100 de glycolmonochlorhydrine dans l'eau, sont fractionnées par électrophorèse en gel d'amidon (4 h 45 ; 8 volts/cm) en tampon lactate d'aluminium (μ = 0,0045 ; urée 0,5 M ; pH 3,2) dans des conditions précédemment décrites (Feillet, 1965 ; Autran, 1973) ; les protéines sont colorées par la nigrosine 0,05 p. 100 en milieu trichloracétique 2 p. 100 ; les fractions sont identifiées grâce à leur mobilité (de 0 à 100) comparativement à celle de la bande majeure du groupe des γ-gliadines à laquelle est attribuée arbitrairement la valeur 65 (Autran et Bourdet, 1973).

On apprécie, soit par densitométrie [1], soit par simple observation visuelle du gel, si une fraction est présente à l'état de traces (tr.) ou à faible (+), moyenne (++) ou forte (+++)

[1] On considère qu'un composant est présent à l'état de trace, à faible, moyenne ou forte concentration s'il représente moins de 2, 2 à 4, 4 à 6,5 ou plus de 6,5 p. 100 de l'ensemble des composants (rapport des absorptions).

concentration. On considère qu'il existe une différence significative entre 2 diagrammes si pour un même composant, l'écart des concentrations est d'au moins 2 unités (exemples : o et +, tr. et ++, + et +++).

Sans préjuger de l'identité de composants possédant la même mobilité, il est possible de caractériser une variété au moyen d'un diagramme-type gliadine (mobilités et concentrations relatives des composants) et de comparer 2 ou plusieurs variétés en calculant le nombre de différences significatives, appelé indice de dissimilarité, entre les diagrammes pris 2 à 2.

4. — *Extraction et fractionnement des gluténines*

L'étude de la variabilité génétique des gluténines réduites a porté sur les échantillons des séries B et C et sur quelques autres variétés.

Les gluténines sont extraites suivant la méthode de JONES *et al.* (1959) à partir de 15 g de farine. Les réductions-alkylations sont effectuées sur 100 mg de gluténines suivant la méthode de HUEBNER (1970).

Les gluténines réduites sont fractionnées par électrophorèse en gel d'amidon (5 à 6 heures ; 14 volts/cm) en tampon lactate d'aluminium (0,0015 M ; urée 3 M ; pH 3,2) suivant les conditions décrites par LANDRY *et al.* (1965) ; les protéines sont révélées par une solution de nigrosine à 0,05 p. 100 dans l'acide acétique à 30 p. 100.

5. — *Extraction et fractionnement des β-amylases*

La forme soluble libre de la β-amylase (JOUDRIER et BOURDET, 1972) est solubilisée à partir de 150 mg de farine par simple macération durant 1 heure dans la monochlorhydrine du glycol 5 p. 100, NaCl 0,05 M (pH 5,1). Après centrifugation, les protéines sont fractionnées par électrophorèse en gel de polyacrylamide 7,5 p. 100 (8 volts/cm ; 4 heures) en tampon lactate d'aluminium (pH 3,2).

Après migration les β-amylases sont révélées spécifiquement : une moitié de gel coupé horizontalement est immergée 30 minutes dans une solution d'amidon 1 p. 100 (pH = 4,5) puis, après lavage à l'eau, dans une solution iodo-iodurée ; les β-amylases apparaissent en bandes claires sur fond bleu-noir ; les α-amylases n'influent pas sur les résultats (JOUDRIER, 1974).

6. — *Extraction et fractionnement des peroxydases*

Les peroxydases sont extraites de la farine par mise en contact, pendant 1 heure à température ordinaire, de 500 mg de farine avec 10 ml d'eau. Après centrifugation (20 mn à 18 000 *g*), les protéines solubles sont fractionnées en gel de polyacrylamide 8 p. 100 (7 volts/cm ; 3 heures) en tampon *Tris*-HCl (0,05 M ; pH = 8,6). Après migration, les peroxydases sont révélées spécifiquement en immergeant la moitié inférieure du gel coupé horizontalement dans une solution de catéchol et de peroxyde d'hydrogène (KOBREHEL *et al.*, 1972).

7. — *Extraction et fractionnement des phosphatases acides*

Les phosphatases acides sont extraites de la farine par mise en contact (12 heures à 4°C) de 500 mg de farine avec 1 ml de Tampon *Tris*-HCl (*Tris* : 121 g ; HCl 0,2 M : 81 ml ; H_2O q.s.p. 2 000 ml ; pH = 8,6). Les phosphatases sont fractionnées dans les même conditions que les péroxydases, puis colorées spécifiquement par le β-naphtylphosphate de sodium à pH = 5 : le gel coupé horizontalement est immergé 1 heure dans un tampon acétate (μ = 0,05 ; pH = 5) contenant 300 mg de β-naphtylphosphate de sodium par litre ; la température est maintenue à 37°C. Le gel est ensuite placé dans le colorant suivant : fast blue RR salt : 100 mg ; acétone : 10 ml ; H_2O : q.s.p. 100 ml ; les phosphatases apparaissent rouges sur fond jaune après 30 minutes.

8. — *Extraction et fractionnement des α-estérases*

Les estérases sont extraites de la farine par mise en contact (1 heure à la température du laboratoire) de 500 mg de farine avec 1 ml d'eau désionisée. Les α-estérases sont fractionnées dans les mêmes conditions que les peroxydases, puis colorées spécifiquement dans des conditions

voisines de celles décrites par SINGH *et al.* (1973) ; après avoir été coupé horizontalement, le gel est immergé pendant 30 minutes à 37°C dans le milieu réactionnel suivant : Tampon *Tris*-HCl (pH = 8,6) : 10 ml ; α-naphtylacétate 1 p. 100 : 10 ml ; fast blue RR salt : 125 mg ; H_2O désionisée : q.s.p. 250 ml.

III. — RÉSULTATS

A. — *Influence des conditions de développement de la plante sur les diagrammes électrophorétiques*

Les échantillons des séries A et B ont été analysés afin de rechercher si les diagrammes électrophorétiques obtenus étaient sous l'unique dépendance des facteurs génétiques.

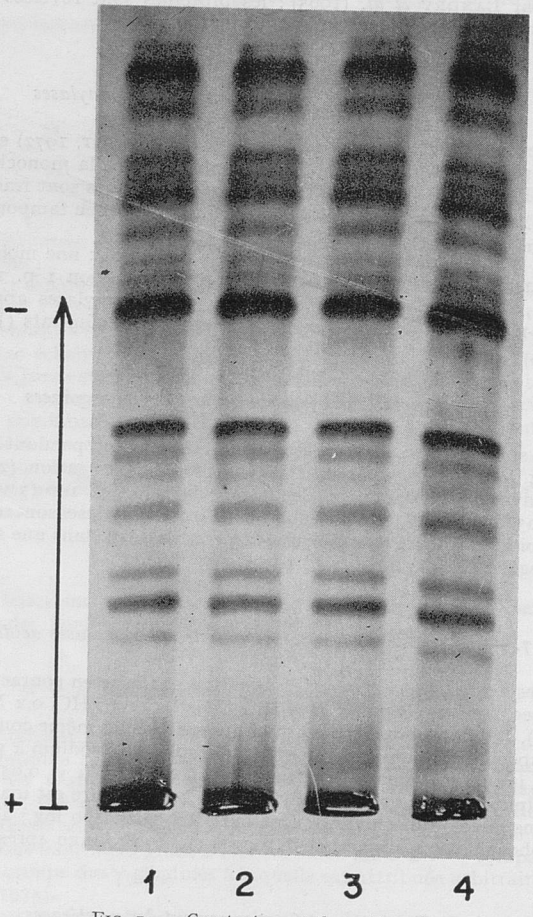


FIG. 1. — *Comportement électrophorétique*
(gel d'amidon ; tampon lactate d'aluminium ; pH = 3,2)
des gliadines extraites de blé (variété « Heima ») *cultivé dans différentes conditions*

1 : Culture normale
2 : Apport précoce de fongicide
3 : Apport tardif de fongicide
4 : Culture étouffée

On sait depuis longtemps que l'hétérogénéité électrophorétique des gliadines est une caractéristique variétale. Elle n'est pas modifiée par l'apport d'engrais, les lieux ou les années de culture (Feillet, 1965 ; Feillet et Bourdet, 1967 ; Doekes, 1968 ; Autran, 1973). Le diagramme de la figure 1 montre que des modifications dans les conditions de développement de la plantes par apport précoce ou tardif de fongicide ou en favorisant une culture « étouffée » n'agissent pas davantage sur l'aspect des diagrammes.

Des résultats identiques, illustrés figure 2 par les zymogrammes des peroxydases extraites de la variété « Capitole » cultivée dans 6 conditions différentes, indiquent que la composition en β-amylases, α-estérases, peroxydases et phosphatases acides des blés matures et sains ne dépend que de facteurs génétiques.

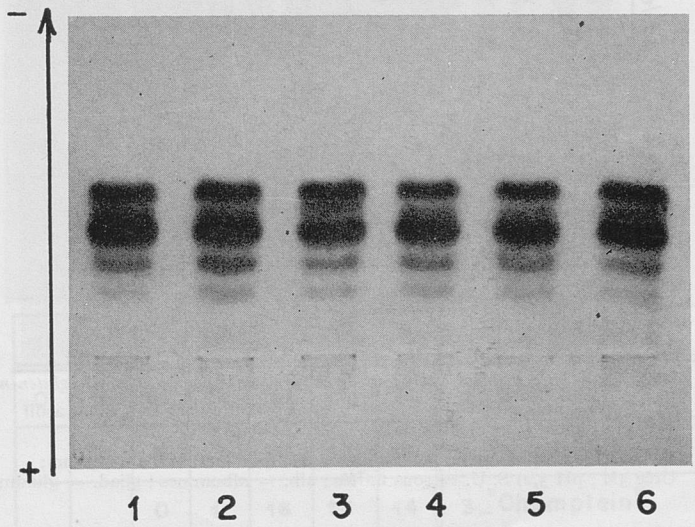


Fig. 2. — *Comportement électrophorétique*
(gel de polyacrylamide ; tampon *Tris*-HCl ; pH = 8,6)
des peroxydases extraites de blé (variété « Capitole ») *cultivé dans différentes conditions*

1 : Culture à Dijon
2 : Culture à Rennes
3 : Culture à Montpellier
4 : Traitement fongicide précoce
5 : Traitement fongicide tardif
6 : Culture étouffée

Par contre, les diagrammes des gluténines réduites — dont on a vérifié la reproductibilité — montrent des différences aussi bien quantitatives que qualitatives au niveau des constituants lents, suivant le stade de développement auquel ont été faits les traitements et la nature de ces derniers (fig. 3). Ces différences sont particulièrement nettes dans les diagrammes correspondant aux variétés « Joss » et « Heima ». On constate pour ces 2 variétés, que le diagramme correspondant au blé ayant reçu un traitement favorisant une culture étouffée est identique au diagramme correspondant au blé ayant reçu 2 traitements fongicides tardifs, alors que le diagramme correspondant au blé ayant reçu un traitement fongicide précoce est identique au diagramme des gluténines réduites extraites du blé cultivé dans des conditions normales.

Cependant, on n'observe que peu de différences entre les diagrammes des

variétés « Capitole » et « Splendeur » et il semble que des 5 variétés étudiées, la variété « Étoile de Choisy » soit la moins sensible aux traitements fongicides du point de vue de la synthèse des gluténines.

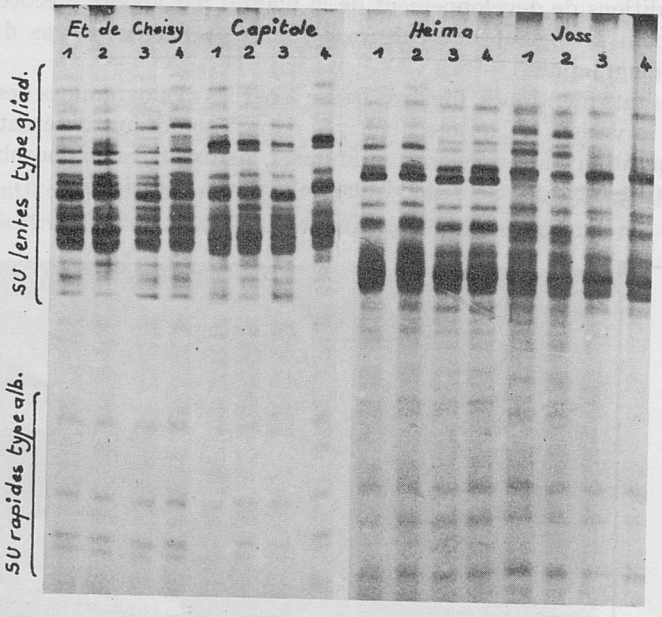


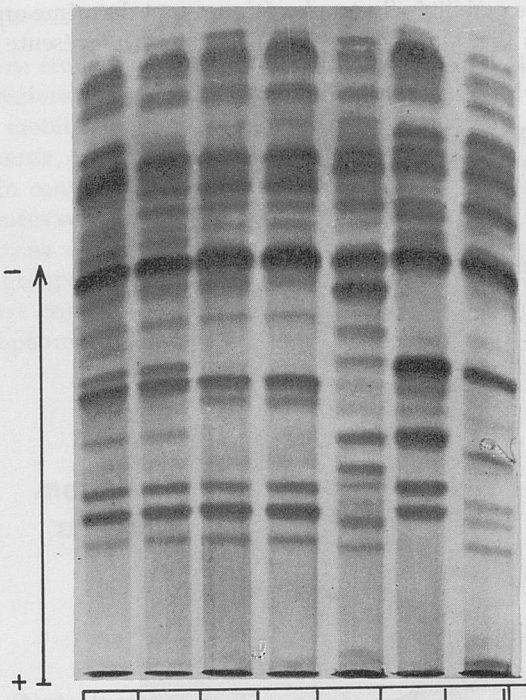
FIG. 3. — *Influence des conditions de culture sur la composition des gluténines*
1 : Culture normale
2 : Traitement fongicide précoce
3 : Traitement fongicide tardif
4 : Culture étouffée
(Électrophorèse en gel d'amidon ; tampon lactate d'aluminium ; Urée 3M ; pH 3,2) S. U. = sous unités ; alb. = albumines ; gliad. = gliadines)

B. — *Étude comparée de 39 variétés de blé tendre*

1. *Gliadines.*

Confirmant les résultats antérieurs de BOURDET *et al.* (1963) ; LEE et WRIGLEY (1963) et FEILLET (1965), on observe des différences qualitatives et quantitatives entre les diagrammes électrophorétiques des gliadines extraites des 39 variétés de blé tendre étudiées dans ce travail, comme l'illustre la figure 4, limitée à 7 échantillons.

La quantification de ces différences, au moyen des indices de dissimilarité, permet en outre des interprétations plus précises. Ainsi, lorsque les origines génétiques des blés sont assez proches, les valeurs des indices sont toujours faibles (exemples : 6 entre « Capitole » et « Hardi » ; 3 entre « Hardi » et « Champlein »). Inversement, lorsque les blés ont des origines génétiques éloignées, les indices sont généralement élevés (exemples : 18 entre « Magdaléna » et « Mironovskaya 808 » ; 22 entre « Capitole » et « Jufy I »). Dans ce second cas, on observe néanmoins une exception dans le cas de « Poncheau » et « Champlein » : ces 2 variétés bien que d'origine différente possèdent inexplicablement des diagrammes presque identiques (indice de dissimilarité : 1).



1	2	3	4	5	6	7	
0	6	11	11	22	13	22	1_"Capitole"
	0	3	3	17	12	19	2_"Hardi"
		0	1	16	13	14	3_"Champlein"
			0	17	14	18	4_"Poncheau"
				0	14	15	5_"Jufy I"
					0	18	6_"Magdaléna"
						0	7_"Mironovskaya 808"

FIG. 4. — *Diagrammes électrophorétiques* (gel d'amidon ; tampon lactate d'aluminium ; pH 3,2) *et indices de dissimilarité des gliadines de variétés de blés tendres possédant des parentés génétiques voisines* (1 : « Capitole » : 2. « Hardi » : 3. « Champlein ») *ou éloignées* (4. « Poncheau » : 5 : « Jufy I » ; 6: « Magdaléna » ; 7 : « Mironovskaya 808 »).

2. *Gluténines réduites.*

L'électrophorèse sur gel d'amidon des sous-unités de gluténines de blés tendres montre qu'elles se répartissent en 2 groupes : un groupe d'une vingtaine de constituants ayant des mobilités électrophorétiques du même ordre de grandeur que celles des gliadines β, γ et ω et un groupe de 6 constituants, dont les concentrations sont

nettement plus faibles et dont les mobilités électrophorétiques sont du même ordre de grandeur que celles d'albumines (fig. 5) ; ce groupe de constituants ne présente rigoureusement aucune variabilité intervariétale.

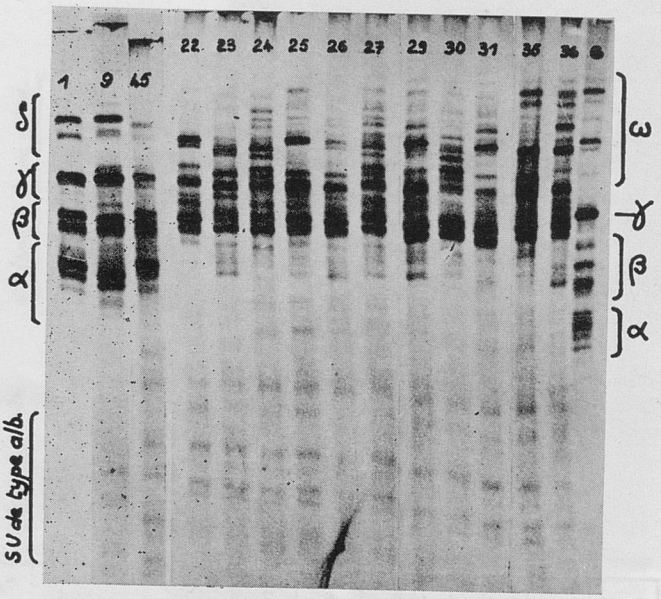


FIG. 5. — *Variabilité génétique des gluténines réduites de variétés de blé tendre*

« Atlas » (1) ; « Novisad 138 » (9) ; « Poncheau » (45) ; (2-7 × « Cappelle ») 95-13 (22) ; (2-7 × « Cappelle ») 171-5 (23) ; (2-7 × « Cappelle » 542 (24) ; Champlein » (25) ; « Péguy » (26) ; « Étoile de Choisy » (27) ; « Hardi » (29) ; Hebrard » (30) ; « Joss » (31) ; « Krasnodarsky Karlik » (35) ; « Magdaléna » (36). (Électrophorèse en gel d'amidon ; tampon lactate d'aluminium ; Urée 3M ; pH = 3,2).

N. B. : Les diagrammes 1,9 et 45 ne provenant pas de la même électrophorèse, on observe certaines différences dans la mobilité des groupes de constituants α, β, γ et δ. S.U. : sous unités ; alb. : albumines ; G : gliadine totale de « Cappelle ». La nomenclature α, β, γ et ω figurant sur la droite des diagrammes ne concerne que le diagramme G.

Les sous-unités de type gliadine se répartissent en 4 sous-groupes α, β, γ et δ. Le sous-groupe δ, bien que toujours présent chez les blés tendres, n'est bien individualisé que chez certains échantillons : « Atlas », « Novisad 138 », etc. Les diagrammes de tous les échantillons montrent un groupe de constituants qui apparaissent sous forme de traces en avant du sous-groupe α. Ces constituants sont problablement des α-gliadines mal éliminées en raison du manque de sélectivité de la méthode d'isolement des gluténines utilisées. Cette supposition est basée sur le fait que ces constituants toujours au nombre de 4, ont des mobilités identiques aux α-gliadines du blé « Cappelle » (G, fig. 5).

C'est au niveau des constituants de mobilités comparables à celles des gliadines que se situe la variabilité génétique des gluténines réduites. Cette variabilité se traduit par des variations dans le nombre et dans l'intensité des constituants des 4 sous-groupes α, β, γ et δ ; elle est au moins aussi importante que la variabilité des gliadines puisqu'on peut constater une différence entre les spectres de gluténines réduites des variétés « Champlein » et « Poncheau » au niveau des sous-unités γ.

3. β-*Amylases.*

Une étude antérieure a montré que les zymogrammes des β-amylases présentent deux régions distinctes : la première est constituée, selon les variétés, de 3 à 8 bandes de faible mobilité ; les 2 à 7 β-amylases plus mobiles constituent la deuxième région (JOUDRIER, 1974).

En considérant seulement cette dernière région, on observe que les 39 variétés examinées se classent en 5 types dont l'un (Type VI), représenté par la seule variété « Yaktana », n'avait pas été rencontré précédemment ; compte tenu de ce qu'un autre groupe (Type V) a été identifié antérieurement (JOUDRIER, 1974), il apparaît qu'il est possible de distinguer 6 types de blé tendre sur la base de l'hétérogénéité électrophorétique des β-amylases les plus mobiles (fig. 6).

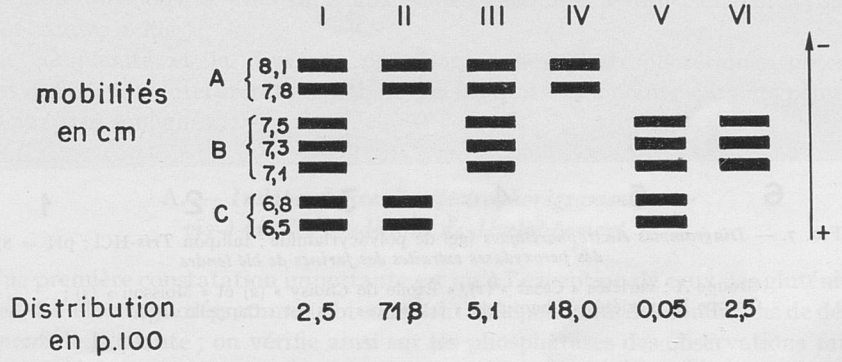


FIG. 6. — *Représentation schématique des 6 types de zymogrammes de β-amylase libre rencontrés chez les blés tendres* (électrophorèse en gel de polyacrylamide ; tampon lactate d'aluminium ; pH = 3,2) ; *distribution en pourcentage des 39 variétés étudiées.*

4. *Peroxydases.*

L'examen des diagrammes électrophorétiques obtenus après coloration spécifique des peroxydases extraites des 39 variétés analysées, confirme l'existence de 6 bandes possédant une activité peroxydasique chez les blés tendres (KOBREHEL et GAUTIER, 1974) : quatre d'entre elles sont communes à tous les échantillons (bandes *a*, *d*, *e* et *f*) ; par contre, suivant la présence ou l'absence des fractions *b* ou *c*, les blés tendres peuvent être classés en deux groupes A (20 variétés) et B (19 variétés) (fig. 7).

5. *Phosphatases acides.*

Suivant les variétés, on dénombre entre 3 et 6 bandes possédant une activité phosphatasique acide après fractionnement par électrophorèse en gel de polyacrylamide (pH = 8,6). En se basant sur le nombre et la mobilité de ces fractions, il est possible de distinguer 7 types de blé tendre différents (fig. 8).

Près de cinquante p. 100 des échantillons examinés appartiennent au groupe 1, 9 p. 100 au groupe 2, 4 p. 100 au groupe 3 et 4 p. 100 au groupe 4 ; les groupes 5, 6 et 7 ne sont représentés que par une seule variété.

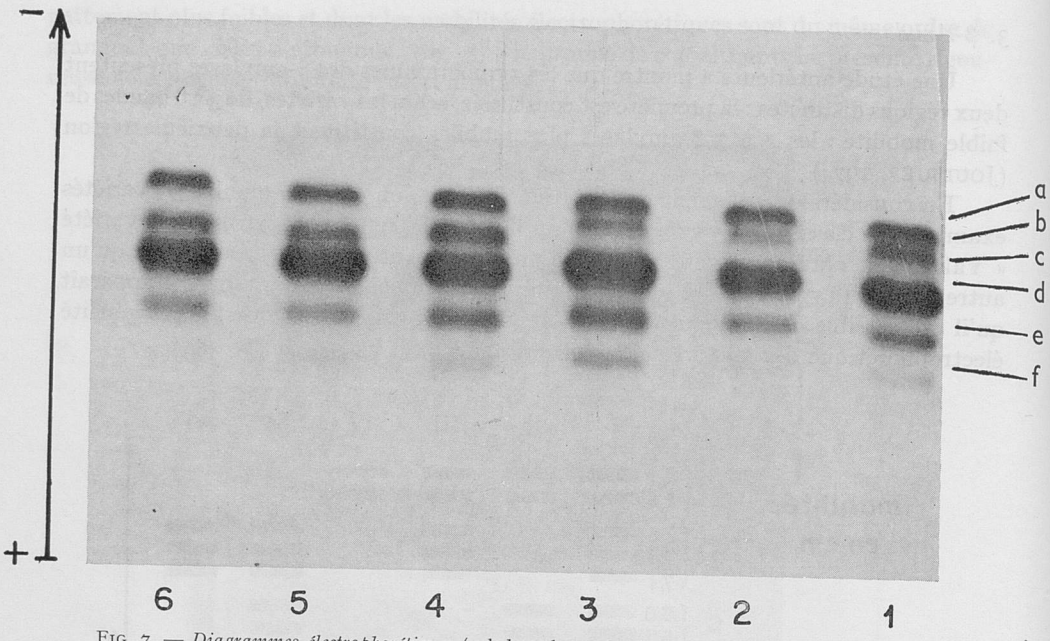


FIG. 7. — *Diagrammes électrophorétiques* (gel de polyacyrlamide ; tampon *Tris*-HCl ; pH = 8,6) *des peroxydases extraites des farines de blé tendre*

Groupe A : variétés « Cesar » (1), « Étoile de Choisy » (2) et « Moisson » (3) ;
Groupe B : variétés « Champlein » (4), « Joss » (5) et « Cappelle » (6).

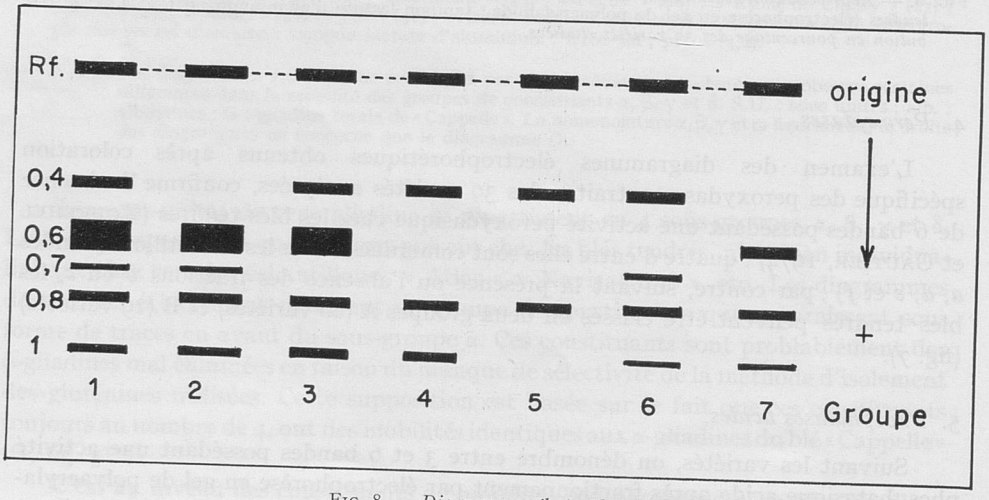


FIG. 8. — *Diagrammes électrophorétiques*

(gel de polyacrylamide ; tampon *Tris*-HCl ; pH = 8,6)
des phosphatases acides extraites des farines de blé tendre

Groupe 1 : variété « Champlein »
— 2 : variété « Étoile de Choisy »
— 3 : variété « Poncheau »
— 4 : variété « Fournil »
Groupe 5 : variété « Yaktana »
— 6 : variété « Magali »
— 7 : variété « Aurora »

6. *α-Esterases.*

Toutes les variétés de blé tendre examinées possèdent le même électrophorégramme dans lequel 11 fractions peuvent être dénombrées.

IV. — DISCUSSION

Les diagrammes α-estérasiques obtenus confirment les observations de CUBADDA et QUATTRUCI (1974) : ils sont identiques pour toutes les variétés. Les gluténines réduites, en raison de leur très grande variabilité, sensibles par ailleurs aux conditions de développement, sont des caractères mal adaptés à la classification des variétés. Aussi, limiterons-nous la discussion aux seules gliadines, β-amylases, péroxydases et phosphatases acides.

La complexité et la diversité des diagrammes électrophorétiques obtenus rendent difficile une interprétation globale des résultats. Les points suivants peuvent néanmoins être soulignés.

A. — *Indépendance des électrophorégrammes vis-à-vis des conditions de développement*

Une première constatation importante est qu'à l'exception de ceux des gluténines réduites, les électrophorégrammes obtenus sont indépendants des conditions de développement de la plante ; on vérifie ainsi sur les phosphatases des observations faites il y a déjà longtemps sur les gliadines (FEILLET, 1965) et plus récemment sur les peroxydases (KOBREHEL et GAUTIER, 1974) et les β-amylases (JOUDRIER, 1974). A la condition d'analyser des blés matures et sains, on peut donc être assuré que la variabilité observée entre les échantillons est d'origine génétique.

TABLEAU I

Caractérisation de variétés de blé, dont la reconnaissance est difficile d'après les électrophorégrammes des gliadines, grâce à l'identification des groupes β-amylasiques, peroxydasiques et phosphatasiques acides

Variété	« Capitole »	« Moisson »	« Splendeur »	« Champlein »	« Poncheau »
Parenté génétique	Proche			Éloignée	
Peroxydase A (1)	A	B	A	A	A
β-Amylase (2)	II	II	IV	IV	IV
Phosphatase acide (3)	1	2	2	1	3

(1) Groupes A et B.
(2) Groupes I à VI.
(3) Groupes 1 à 7.

B. — *Identification des variétés*

Dans au moins 95 p. 100 des cas, une variété de blé peut être caractérisée par l'électrophorégramme de la fraction gliadine (Ellis, 1971 ; Autran et Bourdet, 1973 ; Wrigley et Shepherd, 1974). Sur un plan appliqué, il a été établi des clés de détermination permettant d'identifier la quasi totalité des variétés cultivées en France et dans la C. E. E. (Autran et Bourdet, 1974). C'est seulement dans de rares cas (moins de 5 p. 100 des blés analysés jusqu'ici) que la grande similitude des diagrammes gliadines rend difficile (exemple : « Poncheau » — « Champlein ») ou impossible (exemple : « Capitole » — « Moisson » — « Splendeur ») la reconnaissance des variétés. Dans ces deux cas, comme le montre le tableau 1, le recours à l'analyse des β-amylases, des peroxydases et des phosphatases peut alors permettre de compléter l'identification variétale.

C. — *Origines de la variabilité observée ; analyse de la parenté génétique*

On peut supposer, avec Wrigley (1972), que la très grande hétérogénéité des gliadines du blé tire son origine d'une succession de mutations ayant provoqué des modifications mineures de la structure primaire des protéines synthétisées, sans altérer leurs caractéristiques, peu spécifiques, de protéines de réserve ; une telle hypothèse se trouve en effet étayée par la similarité de composition en acides aminés des α-gliadines (Platt et Kasarda, 1971), des γ-gliadines (Huebner *et al.*, 1967) et des ω-gliadines (Charbonnier, 1974). Cette hétérogénéité pourrait être expliquée par une hérédité de type polygénique ; les diagrammes électrophorétiques couvriraient alors une partie importante du génome. On comprend ainsi qu'il semble possible de repérer sur la base des indices de dissimilarité des couples de variétés de composition génique suffisamment différente pour espérer obtenir des hybrides F_1 hétérotiques. Néanmoins, et compte tenu de ce que le contrôle de la synthèse des gliadines est porté en totalité par les chromosomes 1 et 6 des génomes A, B et D (Wrigley et Shepherd, 1973) les indices de dissimilarité ne pourraient être, tout au plus, que l'expression de différences géniques existant au niveau de ces chromosomes.

Mossé (1973) rappelait récemment que l'origine des polymorphismes observés chez certaines enzymes, pouvait se situer au niveau génétique, comme dans le cas de la déshydrogénase du maïs dont la synthèse est contrôlée par des gènes différents (Longo et Scandalios, 1969), ou au niveau de la formation de variants moléculaires (homopolymères, hétéropolymères, variants configurationnels) ainsi que cela a été prouvé pour les estérases (Barber *et al.*, 1969) ou les malique-déshydrogénases (Schimpfessel, 1971). On a pu montrer récemment que les trois principales bandes des peroxydases du blé tendre étaient codées par trois différents chromosomes : 7A, 4B et 7D (Krobrehel et Feillet, 1975) confirmant ainsi que la plus mobile des fractions était sous la dépendance du génome D (Krobrehel et Gautier, 1974) ; on sait par ailleurs qu'il existe des différences non négligeables dans la composition en acides aminés des péroxydases *c* et *d* extraites du blé dur (Jeanjean *et al.*, 1975). Les travaux rapportés dans ce mémoire ne permettent pas de préciser l'origine de l'hétérogénéité des amylases et des phosphatases et d'autres études seront nécessaires pour résoudre ce problème. Que la variabilité observée dans la composition enzyma-

tique des blés tire ou non son origine de mécanismes différents de ceux qui déterminent l'hétérogénéité des gliadines, on ne doit pas être surpris qu'il n'apparaisse pas de relation entre les caractéristiques des zymogrammes et la parenté génétique des variétés ; des modifications, même mineures, de la structure des enzymes peuvent en effet entraîner une perte d'activité, limitant ainsi le nombre possible de variants. L'inadéquation des zymogrammes à différencier les variétés pourrait également provenir de ce que le polymorphisme enzymatique serait gouverné par une hérédité oligogénique ; c'est ainsi que des mutations au niveau de trois loci suffiraient, à la rigueur, pour expliquer les différences observées entre « Capitole », « Moisson » et « Splendeur ». Dans la mesure où l'origine des variations est de nature génétique, il semble que les différences entre les zymogrammes puissent être interprétées, comme dans le cas des gliadines, en termes d'indices de dissimilarité ; on compléterait ainsi l'information fournie par l'étude des gliadines, l'apport étant d'autant plus important que d'autres chromosomes que 1 et 6 pourraient être impliqués.

TABLEAU 2

Regroupement des variétés sur la base de leur composition en péroxydases (groupes A et B), *β-amylases* (groupes I à VI) *et phosphatases acides* (groupes 1 à 7)

Groupes			Nombre de variétés	Nom des variétés
péroxydase	β-amylase	phosphatase		
A	I	7	1	« Aurora » (1)
	II	1	6	« Capitole », « Chrismar », « Hardi », « Hebrard », « Mironovskaja 808 », « Ouest »
		2	2	« Aronde », Minturki »
		3	2	« Dreadnought », « Magdalena »
		4	1	« Peguy »
	III	1	1	« Joss »
		2	1	« Heima »
	IV	1	3	« Cappelle », « Champlein », « Kolibri »
		2	1	« Splendeur »
		3	1	« Poncheau »
		4	1	« Promesse »
B	II	1	8	« Atlas 66 », « Cesar », « Gaines », « Jufy I », « Mexique 50 », « Noé », « Novisad 138 », « Top »
		2	5	« Bladette de Besplas », « Étoile de Choisy », « Kalyansona », « Moisson », « Purplestraw »
		3	1	« Kavkaz »
		4	2	« Timstein », « Fournil »
		6	1	« Magali »
	IV	1	1	« Redon M4 »
	VI	5	1	« Yaktana 54 »

(1) Un autre échantillon « Aurora » a la composition A.II.7.

Compte tenu des remarques précédentes, il n'est pas surprenant que le classement des variétés sur la base des indices de dissimilarité (électrophorégramme des gliadines)

ne concorde pas avec ceux fondés sur les zymogrammes, interprétés individuellement (β-amylases, péroxydases ou phosphatases acides), ou globalement en regroupant les résultats (tabl. 2). Dans ce dernier cas, les blés étudiés se répartissent en 16 familles ; en première analyse les regroupements ainsi réalisés ne semblent pas rattachés à la parenté génétique des blés : bien que d'origine très voisine, « Capitole » et « Moisson » (indice « gliadine » de dissimilarité : 0) sont dans des groupes différents (A II 1 (1) et B II 2 (1)) alors que « Jufy I » et « Noé », très éloignés génétiquement (indice « gliadine » de dissimilarité : 16) appartiennent au même groupe (B II A) (1).

L'ensemble de ces résultats indique néanmoins que l'outil biochimique dont dispose l'analyste peut dès maintenant aider les sélectionneurs à mieux choisir des géniteurs lors de l'établissement de programmes d'hybridation.

V. — CONCLUSION

En dépit de leur aspect préliminaire, les résultats rapportés dans ce travail conduisent à une première série de constatations intéressantes ; constance qualitative, sauf pour les gluténines réduites, des électrophorégrammes (gliadines, β-amylases, α-estérases, peroxydases et phosphatases acides) des blés indépendamment des conditions de développement de la plante ; complémentarité des informations fournies par l'étude des gliadines et de certaines enzymes pour identifier les variétés ; possibilité d'apprécier la parenté génétique des blés sur la base des diagrammes des gliadines et inadéquation des zymogrammes pour résoudre ce problème. Par contre, la grande hétérogénéité variétale des gliadines rend difficile l'utilisation de ces protéines comme marqueurs de génomes à laquelle se prête mieux les analyses enzymatiques (Kobrehel et Gautier, 1974).

Les analyses réalisées au cours de cette étude fournissent des informations différentes mais complémentaires. Il apparaît ainsi souhaitable de procéder à des déterminations analytiques variées sur un même matériel génétique. En conséquence, on prévoit dans l'avenir de poursuivre ce type d'étude en l'étendant si possible à des matériels plus élaborés :

— autres espèces hexaploïdes et tétraploïdes ; espèces sauvages diploïdes détentrices des différents génomes du blé ;

— ensemble de lignées issues, par sélection généalogique, du croisement de 2 variétés et étudiées parallèlement pour leurs caractéristiques technologiques et agronomiques ;

— séries de lignées aneuploïdes et notamment : monosomiques, nullisomiques et nulli-tétrasomiques ;

— croisements réciproques de manière à juger l'influence du cytoplasme sur les électrophorégrammes.

C'est à ce prix seulement qu'il semble possible d'atteindre les objectifs exposés en introduction à cet article.

Reçu pour publication en mars 1975.

SUMMARY

GENETIC VARIABILITY OF GLIADINS, GLUTENINS, β-AMYLASES, α-ESTERASES, PEROXIDASES, ACID PHOSPHATASES COMPOSITION IN WHEAT (*T. AESTIVUM*)

The protein (gliadins, glutenins) and enzymic (β-amylases, α-esterases, peroxidases, acid phosphatases) composition of 39 *T. aestivum* varieties have been examined by starch (pH = 3,2) or polyacrylamide (pH = 3,2 and 8,6) gel electrophoresis. The growing conditions only affect the glutenin subunit patterns. Respectively 1, 2, 6 and 7 types of α-esterasic, peroxidasic (A and B), β-amylasic (I to VI) and phosphatasic (1 to 7) patterns have been detected ; the gliadin and reduced glutenin fractions were confirmed to be very heterogeneous. Results indicate that identification of wheat varieties by gliadin analysis in combinaison with enzymic analysis is very efficient. No relation was observed between zymograms and genetic filiations of wheat varieties while the gliadin pattern determination might be a power tool in this purpose.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AUTRAN J. C., 1973. L'identification des variétés de blés. *Bull. anc. Élèves Ec. fr. Meun.*, **256**, 163-169.

AUTRAN J. C., BOURDET A., 1973. Nouvelles données permettant l'exploitation de l'hétérogénéité des gliadines du grain de blé en vue de l'identification variétale. *C. R. Acad. Sci., Sci. D*, **277**, 2081-2084.

AUTRAN J. C., BOURDET A., 1975. L'identification des variétés de blé. Établissement d'un tableau général de détermination fondé sur le diagramme électrophorétique des gliadines du grain. *Ann. Amélior. Plantes*, **25**, 3.

BARBER N., DRISCOLL C. J., LONG P. M., VICKERY R. S., 1968. Protein genetics of wheat and homeologous relationships of chromosomes. *Nature*, **218**, 450-452.

BOURDET A., FEILLET P., METTAVANT F., 1963. Sur le comportement électrophorétique des prolamines du blé en gel d'amidon. *C. R. Acad. Sci.*, **256**, 4517-4520.

CHARBONNIER L., 1974. Isolation and characterization of ω-gliadin fractions. *Biochim. Biophys. Acta.*, **359**, 142-151.

CUBADDA .R., QUATTRUCI E., 1974. Separation by gel electrofocusing and characterization of wheat esterases. *J. Sci. Food Agric.*, **25**, 417-422.

DOEKES G. J., 1968. Comparison of wheat varieties by the electrophoresis of grain proteins. *J. Sci. Fd. Agric.*, **19**, 169.

ELLIS R. P., 1971. The identification of wheat varieties by the electrophoresis of grain proteins. *J. natn. Inst. agric. Bot.*, **12**, 223-235.

FEILLET P., 1965. Contribution à l'étude des protéines du blé : influence des facteurs génétiques, agronomiques et technologiques. *Ann. Technol. agric.*, **14**, H. S. I., 1-94.

FEILLET P., BOURDET A., 1967. Composition protéique et caractéristiques génétiques des blés. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **49**, 1273-1283.

HUEBNER F. R., ROTHFUS J. A., WALL J. S., 1967. Isolation and chemical comparison of different gamma-gliadins from hard red winter wheat flour. *Cereal. Chem.*, **44**, 221-229.

HUEBNER F. R., 1970. Comparative studies on glutenins from different classes of wheat. *J. Agr. Food. Chem.*, **18** (2), 256-259.

JEANJEAN M. F., KOBREHEL K., FEILLET P., 1975. Purification et caractérisation de deux peroxydases de blé dur. *Biochimie*, **57**, 145-153.

JONES R. W., TAYLOR N. W., SENTI F. R., 1959. Electrophoresis and fractionation of wheat gluten. *Arch. Biochem. Biophys.*, **84**, 363-376.

JOUDRIER P., 1974. Spécificité génétique de la β-amylase chez *Triticum aestivum* : existence de cinq types variétaux de zymogrammes. *C. R. Acad. Sci. Sci. D.*, **278**, 1777-1780.

JOUDRIER P., BOURDET A., 1972. Aspect génétique des activités β-amylasiques dans le grain de blé. *Ann. Amélior. Plantes*, **22** (3), 263-279.

KOBREHEL K., LAIGNELET B., FEILLET P., 1972. Relation entre les activités péroxydasiques et polyphénoloxydasiques des blés durs et le brunissement des pâtes alimentaires. *C. R. Acad. Agric.*, **48**, 1099-1106.

KOBREHEL K., FEILLET P., 1975. Identification of genomes and chromosomes involved in wheat peroxidase synthesis. *Can. J. Bot.* (sous presse).

KOBREHEL K., GAUTIER M. F., 1974. Variability in peroxidases isozymes in wheat and related species. *Can. J. Bot.*, **52**, 755-759.

LANDRY J., SALLANTIN M., BAUDET J., MOSSÉ J., 1965. Extraction des protéines des graines. VI. Électrophorèse en gel d'amidon des fractions séparées. *Ann. Physiol. vég.*, **7** (4), 283-293.

LEE J. W., WRIGLEY C. W., 1963. The protein composition of gluten extracted from different wheats. *Aust. J. exptl. Agric. Anim. Husb.*, **3**, 85-88.

LONGO G. P., SCANDALIOS J. G., 1969. Nuclear gene control of mitochondrial malic deshydrogenase in Maize. *Proc. Nation. Acad. Sci.*, U. S. A., **62**, 104-111.

MOSSÉ J., 1973. Hétérogénéité et polymorphisme des protéines et isoenzymes végétales : Aspects moléculaires et évolutifs. *Physiol. vég.*, **11**, 361-384.

PLATT S. G., KASARDA D. D., 1971. Separation and characterization of α-gliadins fractions. *Biochim. Biophys. Acta*, **243**, 407-415.

SCHIMPFESSEL L., 1971. Isoenzymes et régulation : quelques réflexions sur la multiplicité des alcool-déshydrogénases. *Rev. Ferment. Ind. Alim.*, **26** (2), 63-76.

SINGH R. S., JAIN S. K., QUALSET C. O., 1973. Protein electrophoresis as an aid to oat varieties identification. *Euphytica*, **22**, 98-105.

WRIGLEY C. W., 1972. The biochemistry of the wheat protein complex and its genetic control. *Cereal Sci. To-Day*, **17**, 370-375.

WRIGLEY C. W., SHEPHERD K. W., 1973. Électrofocusing of grain proteins from wheat genotypes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **209**, 154.

WRIGLEY C. W., SHEPHERD K. W., 1974. Identification of Australian wheat cultivars by laboratory procedures : examination of pure samples of grain. *Aust. J. exptl. Agric. Anim. Husb.*, **14**, 196-804.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (1), 67-91.

ÉTUDE DES CARACTÉRISTIQUES CYTOLOGIQUES, MORPHOLOGIQUES ET AGRONOMIQUES DE SIX LIGNÉES D'ADDITION BLÉ-SEIGLE

M. BERNARD

avec la collaboration technique de Bernadette SAIGNE et Hélène BONHOMME

Station d'Amélioration des Plantes,
Centre de Recherches de Clermont-Ferrand, I. N. R. A.,
63100 Clermont-Ferrand

RÉSUMÉ

Six lignées d'addition Blé-Seigle, obtenues à partir d'un Triticale octoploïde primaire, sont décrites. L'addition de chacun des chromosomes de Seigle étudiés à un même génotype de Blé entraîne, d'une part, des modifications très spécifiques de la morphologie de divers organes, ce qui a pu être utilisé pour identifier le chromosome ajouté, d'autre part, des perturbations au niveau de la gamétogenèse mâle. Cependant il n'y a apparemment pas de liaison entre ces perturbations et la diminution de fertilité ou l'instabilité chromosomique constatées. Ces lignées ont été croisées avec celles obtenues par RILEY et CHAPMAN. L'analyse des F_1 révèle l'existence de remaniements chromosomiques entre les deux génotypes-Blé, mais surtout à l'intérieur du génome du Seigle, ce qui nuit à l'établissement d'une correspondance biunivoque entre les deux jeux étudiés. Certains chromosomes de Seigle ne peuvent être rangés dans un seul groupe au sein de la classification homéologique utilisée pour le Blé et certaines espèces apparentées.

I. — INTRODUCTION

Divers jeux de lignées d'addition (Blé-Seigle) ont été obtenus par SEARS (non publié), RILEY et CHAPMAN (1958-1960), BHATTACHARYYA, EVANS et JENKINS (1961). Ces différents auteurs estiment alors que la création de lignées d'addition est la seule méthode reproductible permettant d'introduire dans l'espèce Blé tendre certaines des caractéristiques du Seigle. En effet, il est établi que l'éventualité de recombinaisons permettant d'introduire dans le Blé les caractéristiques désirées du Seigle est faible ; d'autre part, le succès en culture de l'amphiploïde Blé-Seigle (Triticale) est, à l'époque, considéré sinon comme très improbable, du moins comme à échéance lointaine.

En dehors de cet aspect spéculatif concernant leur intérêt pratique, RILEY et CHAPMAN (1960) soulignent l'intérêt théorique que présentent de telles lignées d'addition dans un but d'analyse génétique. En effet, « chaque paire de chromosomes du donneur peut être isolée du reste de son génome et examinée séparément, confrontée au génotype de l'accepteur. Il est possible de déterminer les groupes de linkage de gènes dont l'expression est épistatique à celle du génotype accepteur, ou qui interagissent avec les gènes de l'accepteur... Ainsi, des gènes peuvent être localisés (liés à des chromosomes particuliers) qui sont inaccessibles à une étude de génétique formelle... Enfin, le comportement de paires de chromosomes confrontées à un même génotype étranger présente un intérêt cytologique et évolutif ».

En France, Y. CAUDERON et B. SAIGNE (1961) obtiennent un certain nombre de Triticale octoploïdes à la suite du croisement entre Blés tendres et diverses lignées autocompatibles de Seigle. Elles montrent aussi que l'utilisation de telles lignées n'améliore pas systématiquement la fertilité ou la stabilité de l'amphiploïde obtenu. A partir de l'un de ces amphiploïdes, elles ont entrepris un travail, que nous avons poursuivi pour chercher à évaluer les déviations concernant la régularité méiotique, la stabilité chromosomique et la fertilité, induites par l'addition de chacune des paires de chromosomes de Seigle au contexte génétique d'une variété de Blé donnée. Dans la mesure où ces caractéristiques sont une image de l'organisation interne d'un génotype, les déviations constatées devraient permettre d'apprécier le degré de désorganisation de ce génotype à la suite de l'introduction d'un élément génétique étranger. La question posée est de savoir si chacun des chromosomes de Seigle, pris isolément, a le même effet de désorganisation que les autres chromosomes sur chacune des caractéristiques mentionnées, ou s'il existe une certaine « spécialisation ».

II. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le matériel utilisé est le suivant :

— Blé tendre (*Triticum aestivum* (L.) THELL ssp. *vulgare* MK) : une lignée de type printemps (FEC 28 = (« Frontana » × « Étoile de Choisy ») 28) ;

— Seigle (*Secale cereale* (L)) : une lignée pseudo-autocompatible, courte, n° 10, sélectionnée par BERBIGIER à partir de la variété population « Petkus » ;

— *Triticale rimpaui* (MÜNTZING) = T 204, issu du croisement (FEC 28 × Seigle 10) l'un des meilleurs amphiploïdes à 56 chromosomes obtenus par Y. CAUDERON, dépourvu du caractère « col de l'épi velu » caractéristique du chromosome 5 R du Seigle ;

— 7 lignées d'addition disomique différentes. L'une d'elles ne sera pas décrite en détail (2 individus seulement ont été obtenus en 1973). Les 6 autres sont désignées par les lettres A à F. Une version ditélosomique de la lignée C et deux versions ditélosomiques de la lignée F seront également décrites.

Les comptages chromosomiques ont été réalisés sur méristèmes racinaires, placés dans l'α-monobromonaphtalène et maintenus 16 heures au froid (5°C), fixés dans l'acide acétique (90 p. 100), colorés suivant la technique de Feulgen, après hydrolyse dans HCl (N) 12 mn à 60°C.

Les examens en méiose ont été faits après dissection d'étamines dans le carmin acétique ferreux (préparé selon BELLING) après fixation dans l'alcool acétique 3 : 1 additionné de perchlorure de fer et stockage dans l'alcool à 70°.

Les mesures concernant la taille, le tallage, les caractères de l'épi, ont porté soit sur plantes repiquées, à grand écartement (40 × 40 cm), soit sur des individus cultivés en pleine terre à densité de culture « pépinière » (30 plantes/1 m 50). Sur les plantes repiquées, les épis principaux ont été ensachés avant floraison. Sur les plantes semées à densité normale, 20 brins maîtres par ligne

ont été ensachés et récoltés. Par ailleurs, on a également récolté 20 épis laissés en fécondation libre. Chaque catégorie à donné lieu au comptage des épillets stériles, du nombre total d'épillets, du nombre de grains par épi.

III. — RÉSULTATS

A. — *Obtention*

1. *Schéma de principe.*

Il s'agit du schéma d'obtention classique préconisé par RILEY et CHAPMAN (1958) :

Blé FEC 28 × Seigle L 10

↓

F_1 : 21′ B + 7′ R

↓ (x 2)

T 204

21″ B + 7″ R × FEC 28

↓

F_1 21″ B + 7′ R × FEC 28

↓

F_1 de R_1 = 21″ B + 1′ R retenues

↓

F_2 de R_1 = 21″ B + 1″ R

2. *Phase d'obtention des lignées d'addition.*

Les premières phases du travail, depuis le croisement initial jusqu'à l'obtention et l'étude des plantes présentant une addition monosomique, ont été effectuées par Y. CAUDERON et B. SAIGNE avant notre arrivée au Laboratoire.

En F_1 de R_1 33 plantes sur 85 présentent la constitution chromosomique souhaitée (21″ B + 1′ R).

Dans le but d'obtenir, à partir de ce matériel, chacun des chromosomes de Seigle sous forme d'addition disomique avec une probabilité voisine de 1, nous avons sondé les descendances en autofécondation de 27 de ces 33 plantes, en analysant des échantillons de 30 à 50 individus par descendance (tabl. 1). Dans 22 des 27 familles étudiées, nous avons trouvé au moins une plante F_2 de R_1 à 44 chromosomes. Certaines de ces plantes ne correspondaient pas à des additions disomiques, ce qui nous a conduit à éliminer 4 familles. Parmi les 18 restantes, treize ont fourni des effectifs suffisants correspondant au type recherché (21″ B 1″ R) ; les autres ont été abandonnées pour diverses raisons (stérilité totale des plantes à 44 chromosomes, réversion vers des types à 43 chromosomes, similitude phénotypique avec d'autres familles). Ce sont ces treize descendances, correspondant à la 3e génération en autofécondation après le back-cross par FEC 28, que nous avons étudiées, cherché à identifier et à classer en fonction essentiellement de critères morphologiques.

TABLEAU I

Répartition des effectifs dans chaque descendance F_2 de R_1 suivant le nombre de chromosomes

(effectif total : 964 plantes)

Plante F_1 de R_1 $2n = 43$	Effectifs F_2 de R_1			
	$2n = 42$	$2n = 43$	$2n = 44$	Divers
n° 2	16	7	1	1 ($2n = 41$)
11	11	10	1	1 ($2n = 41$
12*	41	17	2	
14	25	4	1	
15	15	12	2	
16	22	7	1	
17	7	4	—	
18*	7	3	1	
22*	5	6	2	
29*	24	5	1	
39*	—	6	1	
42	17	13	—	
46	35	20	3	
51**	50	17	3	1 ($2n = 41$)
52*	15	10	2	2 ($2n = 41$) 1 ($2n = 40$)
56*	8	20	4	
58*	19	10	1	
59*	16	10	2	
60	56	22	1	
61*	12	16	1	
73*	47	23	2	5 ($2n = 41$)
83*	44	14	2	
86	35	19	1	2 ($2n = 41$)
92	26	7	—	1 ($2n = 41$)
96	17	7	—	
100*	18	8	2	1 ($2n = 41$)
101	20	6	—	1 ($2n = 41$)
Total	608	303	37	16

* Plante à l'origine d'une lignée d'addition disomique.
** Plante dont les descendants à 44 chromosomes sont instables ou stériles.

B. — *Identification*

L'identification des lignées d'addition correspond à une double démarche de différenciation (étude des dissemblances à l'intérieur d'un jeu de lignées) et de classification (étude des analogies entre jeux de lignées et établissement des correspondances chromosome à chromosome).

La différenciation à l'intérieur d'un jeu de lignées d'addition peut être basée sur l'étude des différences de toute nature (chromosomique, morphologique, mais aussi physiologique et biochimique) touchant aux phénotypes. Pour notre part, nous nous

sommes attaché à l'étude de quelques caractères concernant la morphologie des plantes. Ceci nous a permis de ranger les 13 descendances mentionnées en 6 classes phénotypiques.

Mais il est évident que ces caractères morphologiques peuvent être affectés par l'existence de remaniements chromosomiques, susceptibles de modifier également la morphologie du chromosome additionnel. Pour éliminer ces risques quand ils ne nous paraissaient pas négligeables, nous avons examiné les comportements méiotiques des F_1 entre quelques familles.

1. — *Étude des caractéristiques phénotypiques.*

Nous nous sommes intéressés aux caractères suivants, observés sur plantes repiquées à grand écartement (40 × 40 cm) :

— taille,
— tallage,
— caractères du feuillage (largeur, port, couleur et pilosité des feuilles),
— caractères de l'épi (longueur, nombre d'épillets, épillets surnuméraires, taille des fleurs, forme des glumes, fertilité),
— caractère du grain (taille, couleur).

Ces observations nous ont permis de définir 6 phénotypes principaux, désignés par les lettres A à F, pour les 13 familles étudiées. Le tableau 2 réunit l'essentiel des données pour chaque famille. On peut en retenir que chacune des lignées d'addition ainsi définie est différente de ses sœurs et de la lignée de Blé FEC 28 pour au moins une caractéristique, à l'exception de la lignée C qui n'agit que modérément sur le tallage et la compacité. On peut résumer leurs caractéristiques essentielles de la façon suivante :

Caractères analysés	Absence d'action sur le caractère analysé	Type d'action	
		augmentation	diminution
Taille	A-B-C	D	E-F
Tallage	D-F		A, C, E, surtout B
Fertilité	A-C		B-D-E-F
Compacité de l'épi	C	F	A-B-E
Largeur des feuilles	B-C-F	A-E	D

2. — *Examen de F_1 entre lignées.*

Dans le cas où il pouvait rester quelque doute quant à l'identité des lignées obtenues les unes par rapport aux autres, et principalement dans le cas où il existait une différence quelconque entre deux lignées présentant globalement le même phénotype, nous avons examiné les méioses des plantes F_1 entre ces lignées. Les comportements observés ont été conformes à ce que l'on pouvait attendre des observations phénotypiques réalisées. C'est ainsi que nous avons obtenu 22'' pour les croisements « intra B » (39-4 confronté à 22-13 et 29-3), « intra C » (12-56 × 18-16), « intra F » (56-10 × 61-8). Deux lignées présentant un grand fragment (83-17 ; 56-37) ont fourni

TABLEAU 2. — *Caractéristiques phénotypiques de 13 descendances F_1 de R_1*
(deux d'entre elles sont dédoublées en versions normales et ditélosomiques : 56 et 61)

Phénotype	A		B			C			D	E		F					FEC
N° descendance	59-11	100-3	22-13	29-3	39-4	12-56	18-16	83-17 (t'')	58-21	73-52	52-13	56-10	61-8	56-37 (t'')	56-49 (t'')	61-8 (t'')	28
Taille (cm) (1)	V 77	75	76	68	70	74	69	64	90	55	58	63	57	67	66	73	76
	CF 80	88	82	87	78	84	80		95	64	70	69	66	77		68	
Tallage épis/plantes (1)	V 15	15	8	9	10	14	13	17	29	12	13	33	28	39	14	19	26
	CF 12	15	5	9	5	14	13		16	7	12	24	21	28		18	
Fertilité (gr AA/épi) (1)	V 27	30	7	4	4	20	24	21	12	15	18	12	10	24	33	37	35
	CF 35	38	10	17	8	32	30		34 (3)	23	22	17	27	24		37	
Taille épi (cm)	12,7			11,7		9,7	10,9	10,8		12,5	11,8	8,4	8,2	9,1			
Nbre épillets	20			20,8		19,2	19,8	20,4		20,4	19,2	21,2	21,6	21,4			
Compacité $\frac{\text{épillets}}{\text{cm longueur}}$	1,57	1,62	1,68	1,77		1,99	1,81	1,88		1,63	1,63	2,52	2,63	2,36		1,79	
Taille d'un épillet médian (cm)	1,63			1,63		1,46	1,49	1,51	1,70	1,71	1,69	1,43	1,37	1,37			
Glumes : $\frac{L}{l}$	2,5	2,6	2,3	2,3		2,7	2,6		3,5		2,6	2,7	2,6			2,3	
$10\ L \times l\ (mm^2)$	463	447	348	401		320	338		367		469	353	362			407	
Épillets surnuméraires	oui	oui	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tallage	port	dressé								étalé						
	feuilles	larges et peu flexueuses		larges et raides			larges et flexueuses			étroites et raides	larges et flexueuses					
Montée	largeur avant dernière feuille (mm)	18	16,5	13,5	12,2	12,2	14,5	13,8	—	9,4	15,8	16,4	15,6	13,6	—	16,8	18
	port : feuilles	retombantes		dressées			retombantes			érigées	demi-retombantes						
	coloration	*id* FEC 28		vert foncé			*id* FEC 28				vert foncé		*id* FEC 28				
Floraison	feuillage (larg.) (2)	20,2	21	18	16,3	16,4	17,8	15,2	16,2	16	21	21	16,5	18		21	20,5
	glaucescence	non glauque		glauque			non glauque				glauque		non glauque				
Gaine dernière feuille	pilosité						poils s/oreillettes				poils sur oreillettes						
	glaucescence	glauque					non glauque				glauque		non glauque				

(1) V : Versailles ; CF : Clermont-Ferrand.
(2) Dernière feuille.
(3) Descendance stérile.
Remarque : les télosomes de la (56-37) sont morphologiquement différents des télosomes des (61-8) et (56-10).

un hétérobivalent en F_1 avec leurs homologues disomiques (12-56 et 56-10). La F_1 entre les lignées phénotypiquement voisines E (52-13) et B (29-3), présentait régulièrement 21'' + 2' en métaphase réductionnelle (MI).

C. — *Caractéristiques*

Nous avons tenté d'évaluer l'effet de chaque chromosome additionnel sur les caractéristiques suivantes :

— comportement méiotique : taux d'asyndèse lié à la présence du chromosome additionnel ;
— stabilité chromosomique, définissant le taux de « reproduction conforme » ;
— caractéristiques agronomiques.

TABLEAU 3

Comportement méiotique en MI des lignées d'addition Blé-Seigle : évaluation du taux d'asyndèse

		Nombre de plantes analysées	Nombre de CMP analysées	Nombre de CMP présentant					Fréquence de CMP présentant		
				0 I	2 I	4 I	6 I	1 (IV)	0 I	2 I	4 I
FEC 28		9	318	309	9			30 (2 plantes)	97,2	2,8	
A	100-3	8	370	338	29	3			91,3	7,8	0,8
	59-11	10	461	407	52	2			88,3	11,3	0,4
B	22-13	15	560	533	23	4		2	95,2	4,1	0,7
	29-3	13	381	342	38	1		3	89,8	10	0,2
	39-4	8	241	236	5				97,8	2,1	
	29-3 (*t''*)	4	143	121	22				84,6	15,4	
C	12-56	21	936	856	76	4			91,4	8,1	0,9
	18-16	17	671	583	79	8	1		86,9	11,8	1,3
	83-17 (*t* 1'')	8	341	269	69	3			78,9	20,2	0,9
	(*t''*)	11	508	376	123	8		1	74	24,2	1,8
D	58-21	4	90	82	7	1			91,1	7,8	1,1
E	73-52	10	376	330	41	4	1		87,9	10,9	1,1
	52-13	6	255	209	44	2			82	17,2	0,8
F	61-8	11	348	319	29				91,7	8,3	
	56-10	9	415	380	35				91,6	8,4	
	56-37 (*t''*)	10	384	345	37	2		23 (2 plantes)	89,8	9,6	0,5
	61-8 (*t''*)	2	100	62	37	1			62	37	1
	56-49 (*t''*)	6	252	152	94	5	1		60,3	37,3	2,4

1. *Comportement méiotique.*

L'examen des comportements méiotiques en MI permet d'évaluer le taux d'asyndèse, que l'on peut exprimer pour chaque lignée par la fréquence des cellules mères de pollen (CMP) présentant deux univalents ou plus. Une récapitulation des résultats d'observations en méiose est donnée dans le tableau 3.

Toutes les lignées, à l'exception de la descendance B (39-4), présentent des taux d'asyndèse supérieurs de 10 p. 100 environ à celui observé chez FEC 28 ; seule la lignée E (52-13) présente un taux d'asyndèse plus élevé que la moyenne générale « lignées » (P $\chi^2 < 0{,}01$), tandis que son homologue E (73-52) n'en diffère pas.

Par contre, toutes les lignées disomiques, mais possédant un ou deux fragments, présentent des taux d'asyndèse très élevés — de l'ordre de 20 à près de 40 p. 100 — à l'exception de la lignée 56-37 où le comportement de la paire de télosomes, de grande taille, est subnormal.

2. *Stabilité chromosomique* (voir tabl. 4).

Les plantes qui ont fait l'objet d'un contrôle cytologique sont elles-mêmes issues, par autofécondation, de plantes dont le comportement méiotique figure dans le tableau 3.

TABLEAU 4

Descendances en autofécondation de plantes d'addition disomique : distribution en fonction du nombre de chromosomes

Lignées	Familles	Total plantes dénombrées	Plantes à $2n$ =				Pourcentage à $2n = 44$
			44	43	42	autres	
A	100-3	26	26	—	—	—	100
	59-11	20	20	—	—	—	100
B	22-13	38	37	1			97
	29-3	50	48	2			96
	29-3 (t'')	6	6	0			—
	39-4	35	29	6			83
C	12-56	47	42	5			89
	18-16	51	39	10	2		76
	83-17 ($t1''$)	30	25	4	1		83
	83-17 (t'')	23	10	9	4		44
D	58-21	20	15	3	1	1 ($2n = 45$)	75
E	73-52	19	13	3		3 ($2n = 45$)	68
	52-13	25	12	9	4		48
F	61-8	54	47	6		1 ($2n = 45$)	87
	56-10	26	25	1			96
	56-37 (t'')	23	11	12			48
	56-49 (t'')	20	10	8	2		50

TABLEAU 5

Caractéristiques agrotechniques

Lignées	Familles	Épis en autofécondation			Épis en fécondation libre			Tallage épi	Caractères du grain	Hauteur	Essai de rendement	
		Nbre épillets	Nbre épillets stériles	Nbre de grains	Nbre épillets	Nbre épillets stériles	Nbre de grains				qx/ha (1)	FEC 28 (%)
A	100-3	18	6,1	24	19	5	33	4,4	très petit, anguleux, roux	102	21,35	67
	59-11	17	4,3	28	19	2,7	40	3,8		97		
B	22-13	20	9,3	17	21	5,6	26	2,8	assez gros échaudé, jaune	104	27,89	88
	29-3	21	10,5	16	21	3,6	32	3,2		99		
	39-4	21	6	23	21	5,5	26	—				
	29-3 (t'')	20	5,6	26	21	5,4	26	—		100		
C	12-56	18	3,6	24	20	2,5	31	4,4	assez gros, peu échaudé jaune	92	29,56	93
	18-16	19	2,7	29	20	2,5	34	5,2		103		
	12-56 (t'')	18	3,9	22	19	2,5	30	3,9		90		
	18-16 (t'')	20	2,7	28	20	2,2	35	5,7		103		
	83-17 (t'')	20	3,2	25	20	1,8	35	4,8		102		
D	58-21	20	5,5	28	21	8	26	4,7		107		
E	73-52	18	8,1	16	19	4,3	28	4,6	gros, échaudé, jaune	83		
	52-13	17	6	18	19	5	27	3,4		79		
F	61-8	20	4,5	25	20	2,6	35	6	assez gros, non échaudé, roux	75	23,81	79
	56-10	19	8,6	14	20	6,4	21	4,6		81		
	56-37 (t'')	20	6,3	20	21	3,2	30	6,6		77		
	56-49 (t'')	19	2,3	31	20	1,2	42	6,2		105		
	61-8 (t''))	20	2,6	33	20	2	35	5,6		103		
FEC 28		20	3,5	34	21	1,5	45	5,4	roux non échaudé	95	31,83	100

(1) p.p.d.s. = 4,5 qx.

Si la stabilité semble bonne ou assez bonne pour les lignées A, B, F, elle est par contre fortement altérée pour les familles « E », où la probabilité d'obtenir une plante à 44 chromosomes d'une plante mère de même constitution est au plus égale à 70 p. 100. Notons que pour cette lignée, nous avons obtenu 3 plantes à 45 chromosomes dans un échantillon de 19, et 4 plantes à 42 chromosomes, dont 2 monosomiques substituées, dans un échantillon de 25.

Les familles ditélosomiques présentent également une instabilité moyenne assez forte. C'est en particulier le cas pour la famille C ditélosomique, alors que son homologue monotélodisomique (21″ + *t* 1″) présente une stabilité comparable aux lignées normales.

3. *Caractéristiques agrotechniques* (voir tabl. 5).

L'influence de chaque chromosome additionnel sur les composantes du rendement est plus ou moins défavorable. Toutes les lignées ont une fertilité épi plus faible que FEC 28, parfois de beaucoup (E-B), particulièrement en régime d'autofécondation. A l'exception de la lignée F, par ailleurs résistante à l'oïdium dans les conditions de Clermont-Ferrand, toutes ont un tallage inférieur à FEC 28. Les caractéristiques du grain sont aussi modifiées : très échaudé et assez gros pour les lignées B et E, il est très petit et anguleux pour la lignée A, ce qui diminue dans des proportions considérables la productivité de cette lignée. En essai de rendement, seule la lignée C semble peu affectée, tandis que A et E ont produit 70 p. 100 et B : 88 p. 100 du témoin FEC 28. Les lignées D et E n'ont pas été testées en raison de leur instabilité chromosomique.

D. — *Étude des correspondances*

En ce qui concerne le problème de la classification des lignées, il nous a semblé intéressant de tenter d'établir les correspondances entre le jeu obtenu et les jeux déjà existants, et si possible d'utiliser la nomenclature établie par Sears, pour le Blé tendre, que l'on a pu étendre à bon nombre d'espèces voisines (Gupta, 1971).

TABLEAU 6

Comportements méiotiques types des F_1 réalisées entre les lignées d'addition (FEC 28 S 10) *et* (Holdfast-King II) *de* Riley

	L I	L II	L III	L IV	L V	L VI	L VII
A	21″ + 2′	21″ + 2′		22″	21″ + 2′	21″ + 2′	
B	21″ + 2′			21″ + 2′		22″	22″
C		21″ + 2′	21″ + 2′	21″ + 2′	21″ + 2′	21″ + 2′	21″ + 2′
D			(1)				
E	22″	21″ + 2′		21″ + 2′	21″ + 2′	21″ + 2′	
F	21″ + 2′	21″ + 2′		21″ + 2′	22″	21″ + 2′	21″ + 2′

(1) F_1 obtenue récemment.

TABLEAU 7

Comportement méiotique des F_1 entre les lignées obtenues et celles de Holdfast-King II

Croisements	Nbre de plantes	Nbre de cellules	Nombre de cellules avec									P. 100 de cellules avec				
			0 I	2 I	4 I	6 I	8 I	I IV	III + I	III + 3 I	Divers	0 I	2 I	4 I	Divers	IV
L I × A	5	228	0	146	78	4		20								
L I × B	1	50	0	44	5	1		5								
L I × E	1	50	37	12	1			2			1 (2 IV)	74	24	2		6
L I × F	2	100	0	73	24	1		9		1	1					
(L I × ABF)	8	378	0	263	107	6				1	1	0	69,6	28,3	2,1	9
L II × A	3	142	0	97	35	5	1	24		2	6					
L II × C	2	105	0	44	39	4	1	7		9	8					
L II × E	3	153	0	125	23	1	2	12		1	1					
L II × F	3	131	0	112	15	2		16		1	1					
(L II × ACEF)	11	531	0	378	112	12	4	63		13	16 (2 IV)	0	71,2	21,1	3,8	11,9
L III × C	1	22	0	14	8			2				0	63,6	26,4		
L IV × A	1	40	8	23	8	1		3				20	57,5	22,5		3
L IV × B	1	plante à 45 chromosomes de type (2′ + 1‴ + 20″)														
L IV × C	4	143	0	102	33	6	1	7	1							
L IV × E	2	43	0	37	6			3								
L IV × F	2	83	0	68	14	1		3								
(L IV × CEF)	8	207	0	53	7	1		13		1		0	76,9	19,7	3,3	6
L V × A	2	76	0	46	28	1	1	7								
L V × E	1	46	0	38	8			2								
L V × F	3	73	34	31	4	1		3	3			46,6	42,5	6,8		4,1
L V × C	3	11	0	8	3											
(L V × AEC)	6	133	0	92	39	1	1					0	69,2	29,3	1,5	6,8
L VI × A	2	100	0	77	21	2										
L VI × B	3	50	24	25	1			1				48	50	2		2
L VI × C	1	16	0	3	3	5	5	5								
L VI × E	2	100	0	90	9			15		1						
L VI × F	2	100	0	87	13			6								
(L VI × ACEF)	7	316	0	257	46	7	5		1			0	81,3	14,6	3,8	11,4
L VII × B	4	154	70	74	6	1		15	2	1		45,4	48	3,9	2,6	10
L VII × C	1	50	0	47	3			6								
L VII × F	3	115	0	95	18	2		4								
(L VII × CF)	4	165	0	142	21	2						0	86,1	12,7	1,2	10

Dans ce but, on peut tenter d'utiliser la morphologie des chromosomes de Seigle, mais la validité d'une telle méthode n'est guère probante, en raison de la variabilité phénotypique des caryotypes des populations ou des lignées de Seigle due à de nombreux remaniements structuraux (HENEEN, 1962 ; GUPTA, 1971, SYBENGA et WOLTERS, 1972). L'analyse méiotique des F_1 entre lignées appartenant à différents jeux fournit indubitablement les renseignements les plus précis. Nous avons, dans ce but, utilisé la série de lignées d'addition obtenues par RILEY à partir de l'amphiploïde (*Triticum aestivum* cv « Holdfast » × *Secale cereale* cv « King II »).

Le tableau 6 mentionne les croisements qui ont été réalisés entre nos lignées et celles de RILEY et pour lesquels nous avons obtenu des informations concernant les méioses F_1. Le détail des types d'appariement est donné dans le tableau 7.

Cette analyse fournit une série de renseignements cohérents, à l'exception, semble-t-il, de ceux concernant les lignées B et C. Les croisements de la lignée (B 29-3) avec les lignées VI et VII de RILEY ont fourni respectivement 3 et 4 plantes F_1 dont l'analyse en méiose a révélé que 48 p. 100 et 45 p. 100 des CMP présentaient une syndèse totale. Notons que ces fréquences sont très inférieures à celles obtenues pour les lignées L VI et L VII elles-mêmes (91 et 88 p. 100) et qu'en outre les plantes F_2 issues des F_1 mentionnées étaient en disjonction pour le type de développement hiver/printemps. Une hypothèse pourrait être que le chromosome B correspond à une translocation réciproque intéressant les chromosomes VI et VII. En outre, il semble que la lignée C n'ait pas d'homologue dans le jeu de lignées d'addition de RILEY.

Alors que le taux d'asyndèse moyen des F_1 entre les deux génotypes Blé (FEC 28 et Holdfast) est de l'orde de 30 p. 100, il est de plus de 50 p. 100 pour les croisements impliquant des chromosomes « homologues » (B × VI), (B × VII), (F × V) et de 80 p. 100 pour le croisement (A × IV). Par contre, le taux d'asyndèse du croisement (I × E) est du même ordre de grandeur que celui observé pour les deux Blés.

IV. — DISCUSSION

1. — *Phase d'obtention*

En F_1 de R_1, correspondant au croisement (21″ B + 7′ R) × 21″ B, il est théoriquement possible d'obtenir tous les nombres de chromosomes compris entre $2n = 42$ (21″ B) et 49 (21″ B + 7′ R). Si l'on admet, comme pour les monosomiques de Blé, qu'un chromosome à l'état univalent présente une probabilité moyenne de perte au cours de la gamétogenèse de 0,5, la répartition des plantes F_1 de R_1 dans les différentes classes chromosomiques répond au développement de la formule $(0{,}75 + 0{,}25)^7$. La distribution obtenue et la distribution théorique en fonction du nombre de chromosomes additionnels sont mentionnés dans le tableau 8. Les deux distributions diffèrent notamment pour les classes à 42 chromosomes (excès par rapport à la fréquence attendue) et à 45 chromosomes (déficit par rapport à la fréquence attendue).

Si l'on s'en tient à la même hypothèse, on observe dans les descendances en autofécondation (F_2 de R_1) de plantes à 43 chromosomes (21″ B + 1′ R), un excédent de plantes à 42 chromosomes et un déficit dans les effectifs à 43 et 44 chromosomes. Cette déviation peut s'expliquer simplement par une compétition pollinique à l'avantage des gamètes euploïdes par rapport aux hyperploïdes. Les résultats expé-

rimentaux sont en effet mieux approchés si l'on suppose que la moitié seulement des gamètes mâles à 22 chromosomes parvient à féconder une oosphère (tabl. 9). Cette hypothèse ne prétend pas expliquer les déviations constatées à l'intérieur de chaque famille : il est tout à fait vraisemblable que les facteurs influençant la compétition pollinique ne sont pas affectés de la même façon par les différents chromosomes additionnels.

TABLEAU 8

Effectifs observés (85 individus) *et théoriques* (84 individus) *en F_1 de R_1 pour le nombre de chromosomes*

Nombre de chromosomes	42	43	44	45	46	47	48	49
Nombre de chromosomes additionnels	0	1	2	3	4	5	6	7
Effectif observé	20	33	21	6	4	1	0	0
Effectif théorique	11	26	26	15	5	1	0	0

TABLEAU 9

Effectifs observés et théoriques, avec et sans compétition pollinique, en F_2 de R_1, exprimés en p. 100 (100 p. 100 = 964 plantes)

Nombre de chromosomes	Résultats expérimentaux	Répartitions théoriques	
		Pas de compétition pollinique (1)	Compétition pollinique (2)
$2n = 42$	63	56	66
$2n = 42 + 1$	31	37	31
$2n = 42 + 2$	4	6	6
$2n = 41$	2	0	0

Ajustement aux résultats expérimentaux : Test χ^2.
(1) $P < 0{,}01$.
(2) $P > 0{,}25$.

En dehors des nombres chromosomiques attendus, il apparut une plante à 40 chromosomes et 15 plantes à 41 chromosomes. Huit d'entre elles appartenaient aux descendances F_2 de R_1 n° 52 et 73, qui se sont révélées porteuses du même chromosome additionnel. Le pourcentage de plantes hypoploïdes dans ces deux familles

s'élève donc à 7 p. 100, alors qu'il est de moins de 1 p. 100 pour l'ensemble des autres familles.

Une soixantaine de plantes F_2 de R_1 présentaient en outre un télosome. La fréquence d'apparition de ces télosomes dépend du nombre de chromosomes surnuméraires (3 p. 1000 chez les plantes euploïdes, 15 p. 100 dans la classe à 43 chromosomes, 40 p. 100 dans la classe à 44 chromosomes). Cette constatation suggère que la majorité de ces télosomes sont des fragments de chromosomes de Seigle, qui se sont trouvés à l'état d'univalents en F_1 de R_1.

2. — *Identification des lignées*

La plupart des auteurs estiment que, à l'exception du chromosome déterminant la pubescence du pédoncule (I suivant Riley et Chapman, 1958 ; VI selon Bhattacharyya et Jenkins, 1960), l'addition de chromosomes de Seigle ne détermine pas de changements phénotypiques pouvant être utilisés pour identifier le chromosome. Pourtant, pour ce qui concerne notre matériel, les différences phénotypiques sont telles que nous avons pu regrouper les familles étudiées en six classes. D'autre part, des déviations phénotypiques de même nature que celles que nous avons observées pour les lignées D et F ont été signalées par Riley pour les lignées III et V respectivement : augmentation de la taille, étroitesse des feuilles et des glumes, finesse des chaumes pour l'une, raccourcissement du chaume, compacité de l'épi pour l'autre. Cependant, la constance de ces déviations morphologiques dans les différents jeux obtenus n'est sans doute pas suffisante pour qu'on puisse les utiliser à des fins de nomenclature. Mais, d'après Heneen (162), Sybenga et Wolters (1972), cette remarque s'étend au caryotype de Seigle, pour lequel il existe une variabilité qui rend difficile l'établissement des équivalences entre les différents jeux de lignées d'addition. En fait, l'adoption comme seul critère d'identification de la morphologie du chromosome de Seigle a conduit à certaines erreurs dans l'établissement d'homologies entre jeux de lignées.

L'examen des méioses F_1 entre lignées est certainement la méthode la moins discutable ; la confrontation de nos lignées avec celles de Riley et Chapman a permis de déterminer de façon certaine les homologies pour trois chromosomes (E = I, A = IV, F = V), mais les taux d'asyndèse observés entre lignées homologues suggèrent l'existence de remaniements structuraux difficilement analysables. Dans la mesure où le taux d'asyndèse est un reflet de la « distance génétique » entre deux génotypes, on peut admettre que les chromosomes E et I sont structuralement peu différenciés, contrairement aux membres des autres couples. Deux chromosomes posent quelques problèmes : le B s'apparie à la fois au VI et au VII de « King II », le C n'aurait apparemment pas d'équivalent. Il est plausible qu'il existe entre ces deux couples au moins une translocation importante, éventuellement accompagnée de remaniements structuraux plus fins.

Sans qu'il ait été possible de réaliser jusqu'à présent le croisement entre les lignées D et III, en raison de leur tardiveté et de leur extrême stérilité, nous pensons qu'elles sont homologues, au vu de leurs caractéristiques phénotypiques très proches.

Cette démarche nous amène à proposer dans le tableau 10, les correspondances entre les deux jeux de lignées mentionnées, auquel il est possible d'ajouter le jeu de lignées « Kharkov-Dakold » obtenu par Evans et Jenkins (1960).

Remarquons que c'est pour le chromosome 5 R que la majorité de substitutions spontanées a été signalée, ce qui confirme le comportement très instable de la lignée E. D'autre part, la lignée F, résistante à l'Oïdium, est porteuse du chromosome 1 R connu pour présenter des gènes de résistance à cette maladie.

TABLEAU 10

Correspondances entre les trois jeux de lignées d'addition : Holdfast-King II, Karkov-Dakold, FEC 28-Seigle 10

Groupe homéologue	Seigle			
	King II (1)	Dakold (2)	Seigle « 10 »	Groupe homéologue proposé pour S 10
2 R (1)	III	II	D	2 R
3 R/1 R (1)	VI	I	B/C	3 R/7 R
5 R (1)	I	VI	E	5 R
6 R (1)	II	IV	G (3)	6 R
1 R (2)	V	VII	F	1 R
4 R/7 R (2)	IV	V	A	4 R
7 R/4 R (2)	VII	III	B/C	7 R/3 R

(1) D'après GUPTA (1971), en fonction des substitutions optimales obtenues.

(2) D'après DARVEY (1973), sans précision de la nature des critères utilisés.

(3) Lignée instable, à épi en massue. Non décrite.

D'autre part, il est probable que les chromosomes IV, V et VII de « King II », pour lesquels il n'a pas été trouvé d'équivalences homéologiques par la méthodes des substitutions optimales, présentent des affinités génétiques avec plus d'un groupe homéologue.

3. — *Caractéristiques de ces lignées*

Les différentes lignées obtenues ne peuvent être différenciées sur le plan des caractéristiques cytologiques : les taux d'asyndèse sont voisins, et la variabilité observée entre familles portant le même chromosome additionnel est aussi grande que celle observée entre lignées. Par contre, les lignées ditélosomiques obtenues présentent des taux d'asyndèse extrêmement élevés : ceci suggère que la probabilité d'appariement de deux télosomes homologues dépend de l'importance relative de ces télosomes par rapport au chromosome entier correspondant.

L'instabilité chromosomique est beaucoup plus caractéristique du chromosome additionnel. Elle ne dépend du taux d'asyndèse que dans la mesure où il existe une proportion non négligeable de CMP qui fournit des gamètes hors types : si q est la proportion de CMP présentant 2 univalents, la fréquence de gamètes hors type peut

être évaluée à $\frac{5}{8}$ q. Or il n'existe apparemment pas de liaison entre le taux d'asyndèse et l'instabilité cytologique. Autrement dit, l'instabilité chromosomique dépend essentiellement de l'aptitude des gamètes non conformes à participer à l'élaboration de la génération diploïde suivante, c'est-à-dire des facteurs de compétition gamétique, probablement pollinique. En outre, il n'y a pas d'éléments qui permettent de rejeter la possibilité d'une interaction entre les constitutions génétiques des gamètes ♂ et ♀. C'est ainsi que dans la descendance de plantes C monotélosomiques, nous avons obtenu une fréquence très faible de plantes disomiques ou ditélosomiques, la structure hétérozygote paraissant favorisée (fréquence de l'ordre de 80 p. 100).

L'instabilité chromosomique dépend non seulement du taux d'élimination du chromosome additionnel, mais aussi de l'aptitude de ce dernier à remplacer un chromosome de Blé. C'est par exemple le cas pour la lignée E (5 R), où les plantes à 42 chromosomes sont aussi bien de structure 21″ Blé que 20″ Blé + 1′ B + 1′ R. Cette possibilité de remplacement accroît évidemment l'instabilité apparente de ces lignées, et contribue probablement à l'instabilité chromosomique constatée chez le Triticale au niveau hexaploïde — et surtout au niveau octoploïde. Mais elle est d'un intérêt certain pour ce qui concerne les possibilités d'évolution et de sélection au sein d'un complexe polyploïde.

Pour ce qui concerne les aptitudes culturales, il est évident que chacune de ces lignées — à l'exception peut-être de la lignée C — présente des performances inférieures au blé correspondant. Mais la structure génétique de lignées d'addition pour évaluer des effets « quantitatifs » est si artificielle qu'il est délicat de tirer des conclusions de cette diminution des performances : découpage d'un génome en unités arbitraires, confrontation de ces unités avec un contexte génétique non adapté, élévation partielle du niveau de ploïdie. Notons toutefois qu'il n'y a apparemment pas de liaison entre le comportement méiotique et la fertilité ; il serait donc illusoire de tenter d'expliquer l'une par l'autre.

V. — CONCLUSION

La création de lignées d'addition pour introduire dans une espèce donnée la plus petite partie autonome d'un génome étranger et obtenir ainsi une nouvelle « variété » douée de la propriété de reproduction conforme n'est pas agronomiquement applicable pour deux raisons :

— la faculté de reproduction conforme est très variable suivant le chromosome additionnel ; la reproduction *sans contrôle* d'une lignée d'addition quelconque aboutit généralement, au bout d'un nombre plus ou moins important de générations, à retrouver la variété de départ — à moins que le chromosome additionnel ne présente un avantage sélectif considérable (résistance à une maladie dans un milieu contaminé par exemple) ;

— le chromosome surnuméraire est extrait d'un contexte génotypique auquel il est bien adapté. Le placer dans un autre contexte génétique perturbe le fonctionnement de ce dernier, ce qui se traduit globalement par une diminution de la productivité. Cette critique rejoint celle, souvent formulée, de la méthode du back-cross, qui n'a d'intérêt en amélioration des plantes que dans la mesure où elle permet d'intro-

duire un caractère, et un seul, dans une lignée qui en est dépourvue, ce qui se traduit le plus souvent par une diminution des performances de la lignée.

Cependant on peut envisager une utilisation pratique de ces lignées d'addition de 3 façons différentes :

— il n'est pas *a priori* impossible de sélectionner par recombinaison un génotype accepteur tolérant mieux le chromosome surnuméraire ;

— la mise au point de blés hybrides permet d'envisager l'utilisation de lignées d'addition sous forme monosomique, dans la mesure où les gènes portés par le monosome sont actifs à l'état hémizygote (Y. CAUDERON *et al.*, 1973) ;

— ces lignées constituent le matériel indispensable à l'obtention de lignées de substitution et de translocation spontanées ou provoquées.

L'intérêt théorique de ces lignées n'est pas négligeable dans la mesure où, comme il a déjà été dit :

— il est possible de mettre en évidence des chromosomes impliqués de façon épistatique dans le déterminisme de caractères qualitatifs ou quantitatifs (résistance aux maladies, au froid, restauration de fertilité mâle ; induction de nanisme) ;

Et par ailleurs :

— c'est un matériel de base intéressant pour des études de génétique physiologique impliquant les caractères mentionnés, ou d'autres pour lesquels les possibilités d'études sont limitées en raison de l'inexistence de génotypes bien définis les uns par rapport aux autres (étude des appariements entre chromosomes, déterminisme de l'échaudage du grain de Triticale, synthèse des protéines) ;

— les connaissances acquises à partir de ce matériel permettront de mettre au point des méthodes de sélection, aussi bien pour le Blé que pour le Triticale, pour un certain nombre de caractères .

— elles offrent des possibilités d'études très précises pour ce qui touche aux processus de spéciation à l'intérieur d'une espèce ou d'un genre (Seigle) ou entre genres (Blé-Seigle).

Reçu pour publication en avril 1974.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier tout particulièrement Mme CAUDERON qui m'a confié ce travail et en a suivi avec attention toutes les étapes. Mes remerciements vont également à Madame SAIGNE pour son assistance technique d'un très haut niveau, ainsi qu'à MM. D. MAIZONNIER et N. DARVEY dont les remarques et avis m'ont été très utiles dans la rédaction de cet article.

SUMMARY

STUDY OF CYTOLOGICAL, MORPHOLOGICAL AND AGROTECHNICAL CHARACTERISTICS OF SIX WHEAT-RYE ADDITION LINES

Six wheat-Rye addition lines, obtained from a primary octoploid Triticale, are described. The addition of each rye chromosome studied, to a same wheat genotype, provoques highly specific modifications in the morphology of several structures, which can be used to identify

the added chromosomes, and also, disturbes male gametogenesis. However, there is apparently no correlation between these disturbances, and either the reduction in fertility or the chromosomic instability observed. These lines were crossed with those obtained by RILEY and CHAPMAN. Analysis of the F_1 progenies shows the existence of chromosomal exchanges between the two wheat genotypes lines, but more especially within the Rye genome. They limit the establishment of unambigous correspondance between the two sets. Certain Rye chromosomes cannot be classified in any one of the homeologous groups used for Wheat and certain related species.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BHATTACHARYYA N. K., JENKINS B. C., 1960. Karyotype analysis and chromosome designations for *Secale cereale* L. « Dakold ». *Canad. J. Genet. Cytol.*, **2**, 268-277.

BHATTACHARYYA N. K., EVANS L. E., JENKINS B. C., 1961. Karyotype analysis of the individual « Dakold » fall rye chromosome additions to « Kharkov » winter wheat. *Nucleus* **4**, 25-38.

CAUDERON Y., SAIGNE B., DAUGE M., 1973. The resistance to wheat rusts of *Agropyron intermedium* and its use in wheat improvement. *Proc. 4th internat. Wheat Genetics Symposium*, Missouri, Agr. exp. Stat. Columbia, Mo 1973.

CAUDERON Y., SAIGNE B., 1961. Obtention d'amphiploïdes à partir de F_1 (*Triticum aestivum* × *Secale cereale*). *Ann. Amélior. Plantes*, **11** (3), 369-373.

DARVEY N. L., 1973. Genetics of seed shrivelling in wheat and Triticale. *Proc. 4th internat. Wheat Genetics Symposium*, Missouri Agr. Exp. Sta., Columbia, Mo 1973.

EVANS L. E., JENKINS B. C., 1960. Individual *Secale cereale* chromosome additions to *Triticum aestivum*. *I.* The addition of individual « Dakold » fall rye chromosomes to « Kharkov » winter wheat and their subsequent identification. *Can. J. Genet. Cytol.*, **2**, 205-215.

GUPTA P. K., 1971. Homoelogous relationship between wheat and rye chromosomes. Present status. *Genetica*, **42**, 199-213.

HENEEN W. K., 1962. Chromosome morphology in inbred rye. *Hereditas*, **48**, 182-200.

RILEY R., CHAPMAN V., 1958. The production and phenotypes of Wheat-Rye chromosome addition lines. *Heredity*, **12**, 301-315.

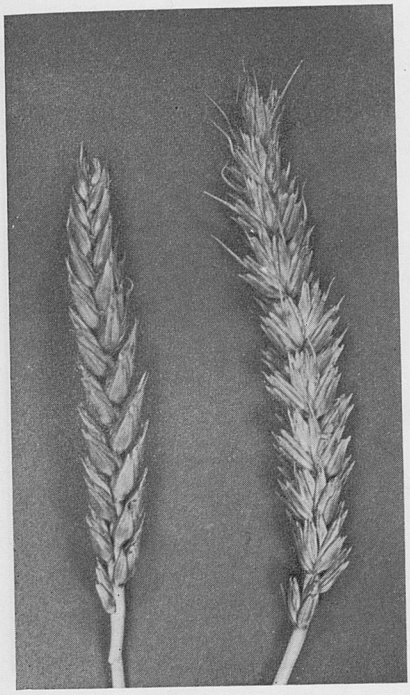
RILEY R., 1960. The meiotic behaviour, fertility and stability of Wheat-Rye chromosome addition lines. *Heredity*, **14**, 89-100.

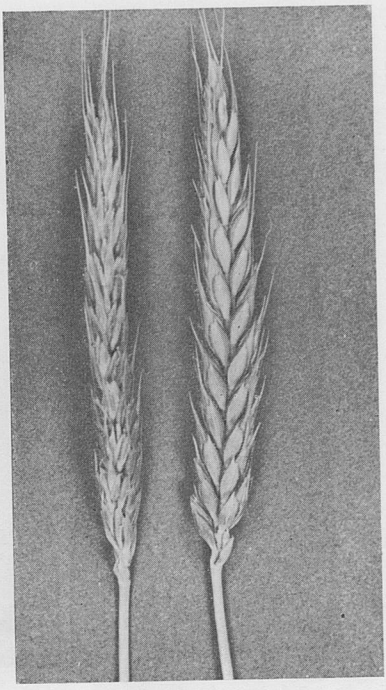
SYBENGA J., WOLTERS A. H. G., 1972. The classification of the chromosomes of Rye (*Secale cereale* L.) : a translocation tester set. *Genetica*, **43**, 453-464.

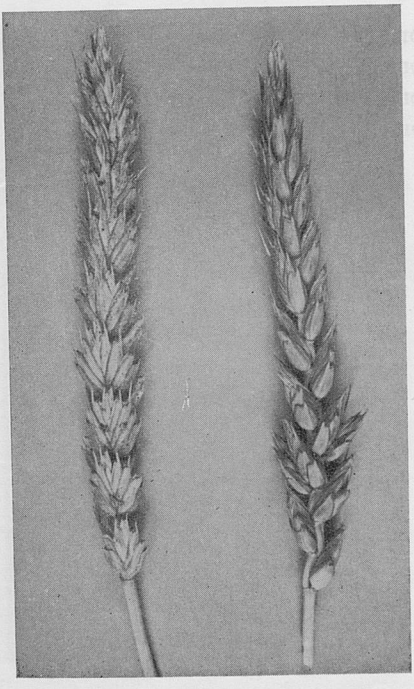
PLANCHE I

Morphologie des épis de FEC 28,
T 204 et des six lignées d'addition obtenues
(× 0,65)

1 : FEC 28
2 : T 204
3 : addition A
4 : addition B





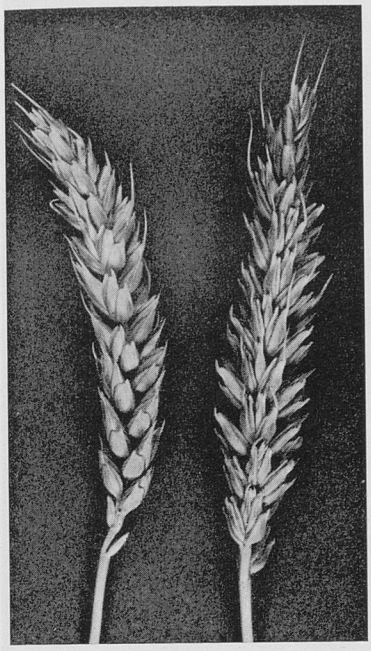


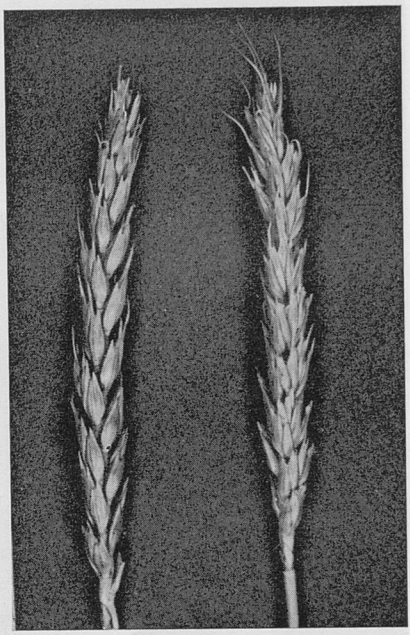
M. BERNARD

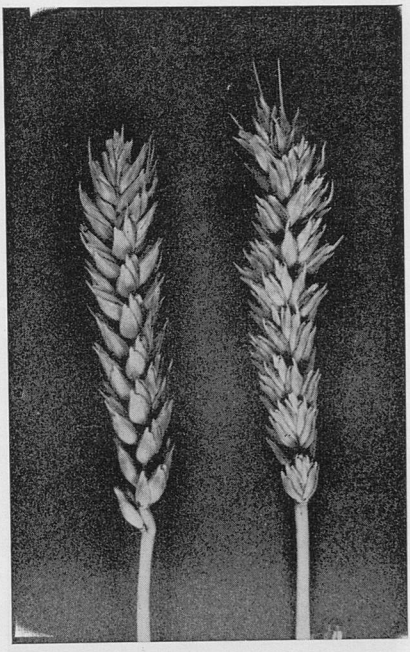
PLANCHE II

Morphologie des épis de FEC 28, T 204 et des six lignées d'addition obtenues (× 0,65)

5 : addition C
6 : addition D
7 : addition E
8 : addition F



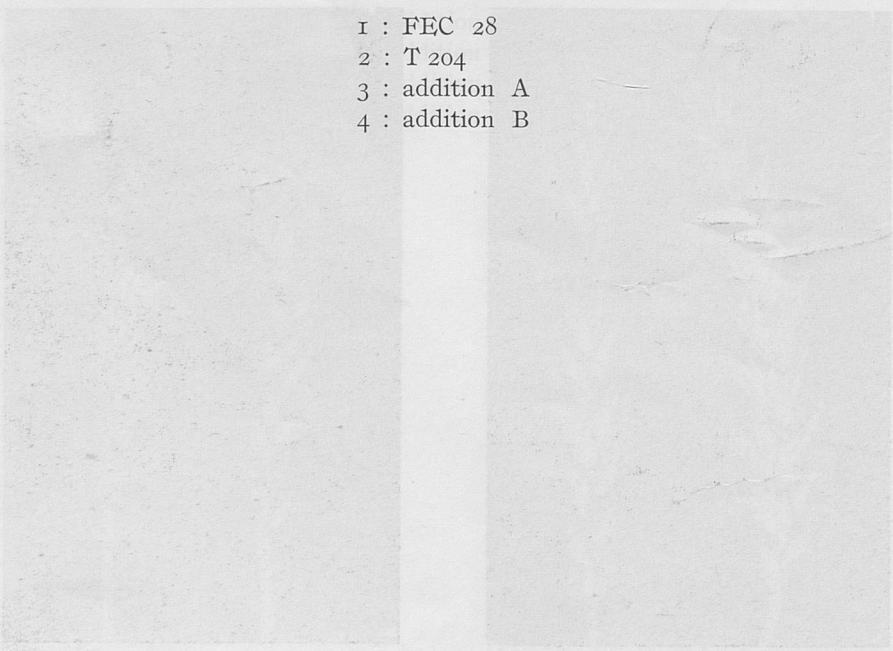




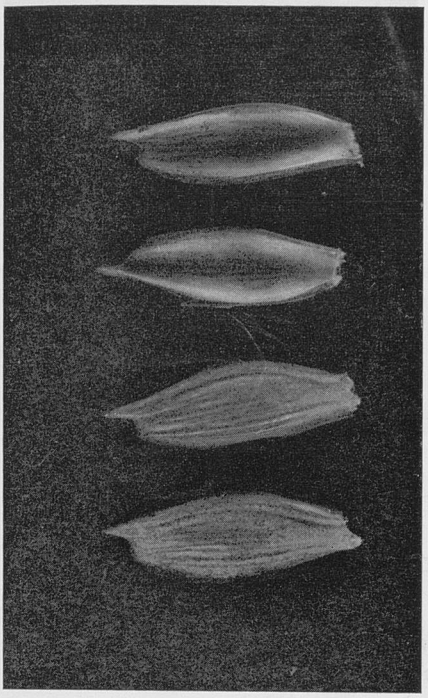
M. BERNARD

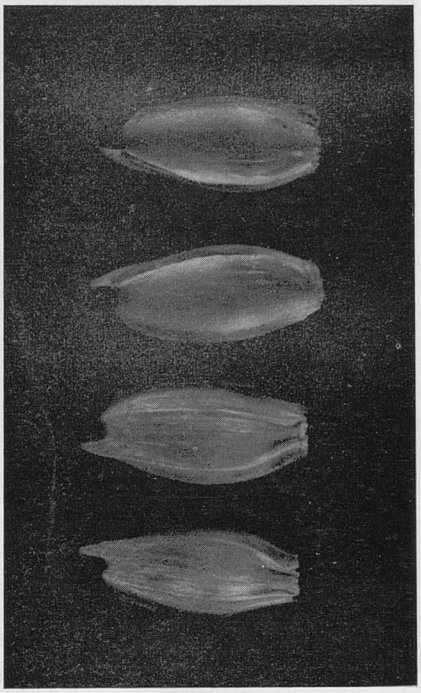
PLANCHE III

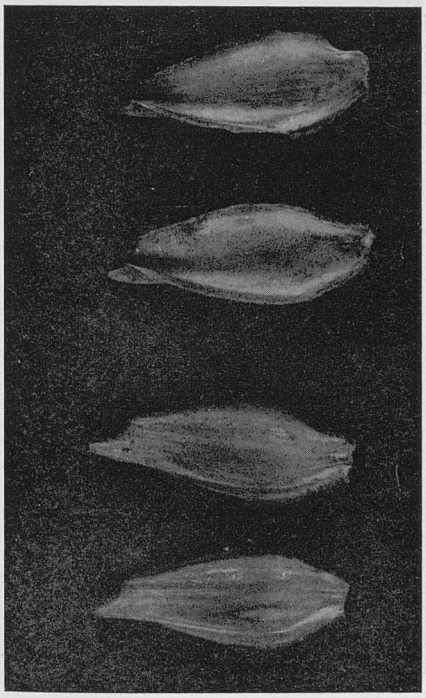
Morphologie des glumes de FEC 28, T 204 et des six lignées d'addition obtenues
(× 3,5)

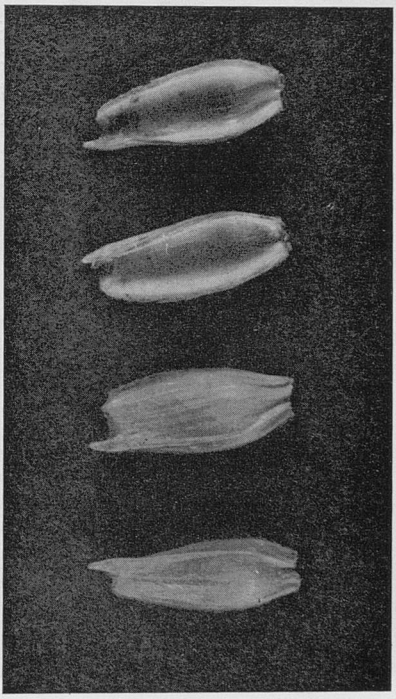


1 : FEC 28
2 : T 204
3 : addition A
4 : addition B









M. BERNARD

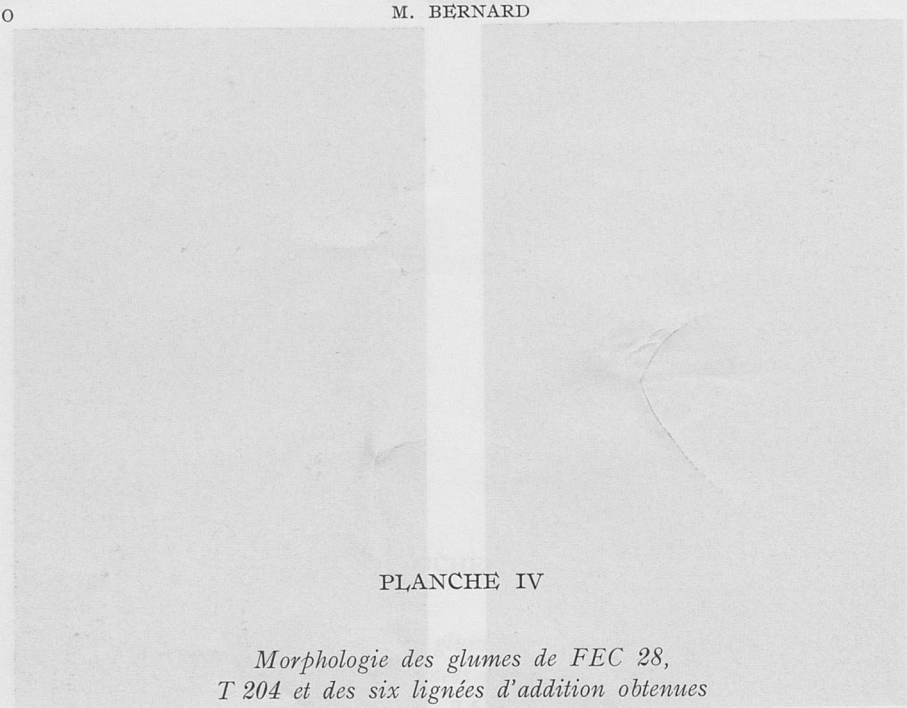
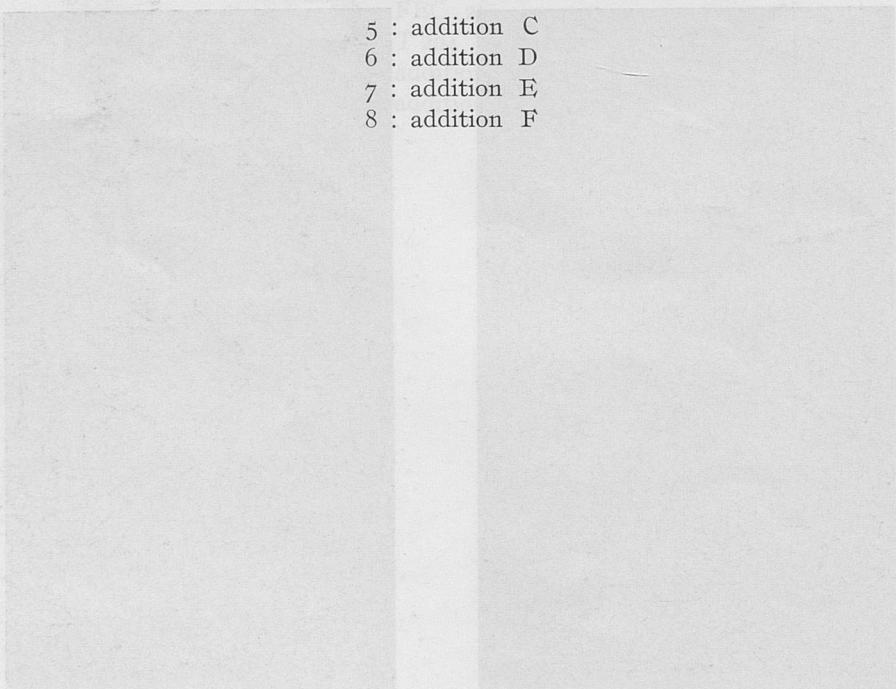
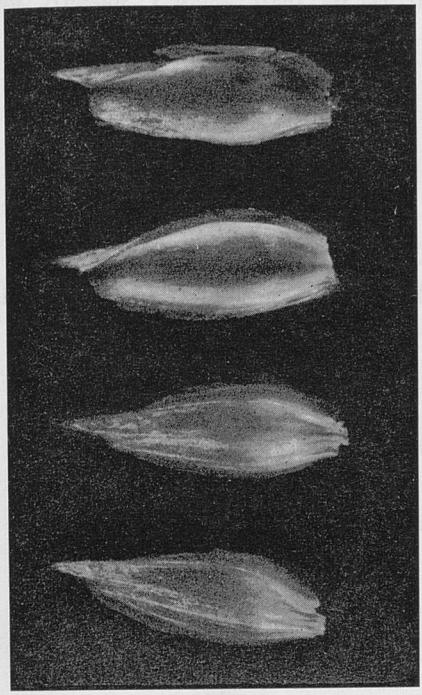


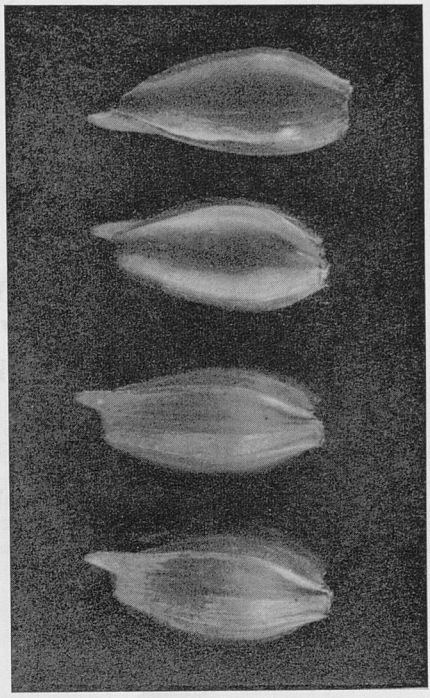
PLANCHE IV

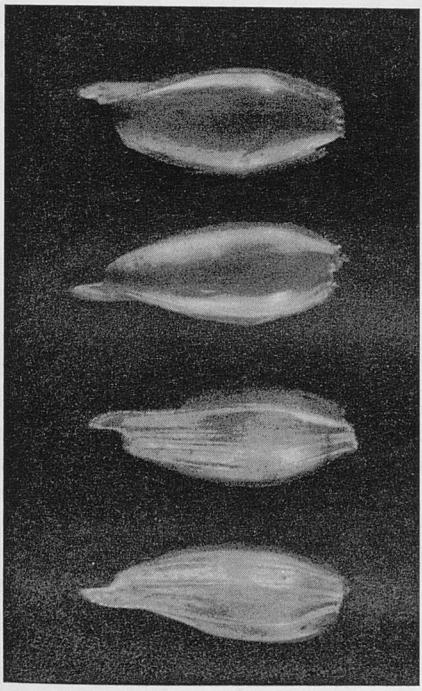
Morphologie des glumes de FEC 28, T 204 et des six lignées d'addition obtenues
(× 3,5)

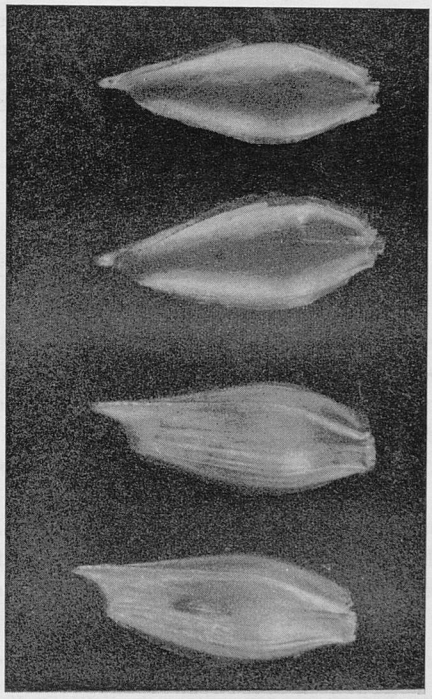


5 : addition C
6 : addition D
7 : addition E
8 : addition F









M. BERNARD

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (1), 93-100.

ÉTUDE PRÉLIMINAIRE SUR LE COMPORTEMENT DE LA PYRALE DU RIZ, *CHILO SUPPRESSALIS* WLK., VIS-A-VIS DE TROIS VARIÉTÉS DE RIZ CULTIVÉES EN FRANCE (1)

P. F. GALICHET, S. POITOUT et T. F. LOMA (2)

Station de Zoologie,
Centre de Recherches d'Avignon, I. N. R. A.,
84140 Montfavet

RÉSUMÉ

La réceptivité de trois variétés de Riz cultivées en France est étudiée vis-à-vis de *Chilo suppressalis* WLK. On montre que le développement larvaire de l'insecte est fonction de l'âge de la plante et que la durée de la période de grande réceptivité constitue un caractère variétal. Les dégâts qui sont observés à la fin de la culture sont en raison inverse de la résistance aux ravageurs.

INTRODUCTION

Le Riz, qui est une plante de grande culture distribuée sur de vastes superficies, héberge une faune abondante et variée. Parmi les insectes les plus nuisibles, quelques-uns appartiennent à un groupe de Lépidoptères (*Pyralidae* ou *Noctuidae*) foreurs des Graminées, dont les larves s'établissent à l'intérieur même des tiges de la plante hôte. C'est notamment le cas du plus commun d'entre eux, *Chilo suppressalis* WLK., *Pyralidae*.

Ce ravageur est originaire d'Extrême-Orient : Japon, Chine, Philippines ; sa distribution s'étend du 46e ou 47e degré de latitude nord, en U. R. S. S., au 16e parallèle sud en Australie. L'espèce occupe encore les importantes régions rizicoles de

(1) Ce travail est en partie extrait d'une thèse de 3e cycle universitaire soutenue par T. F. LOMA à la Faculté des Sciences de Montpellier.

(2) Adresse actuelle : Professeur à l'U. N. A. Z. A., B. P. 16 237, Kinshasa-Binza (République du Zaïre).

Malaisie, de Birmanie et du sous-continent indien. Elle a de plus essaimé au-delà de ce vaste habitat jusqu'en Iran (EBERT, 1973) et en Europe où elle a été observée dès 1933 en Espagne et à partir de 1970 en France (DUFAY, 1970).

La présence de *Chilo suppressalis* a été signalée en Israël et à Zanzibar mais une confirmation semble nécessaire pour chacun de ces pays. Par contre, cette Pyrale a été observée et étudiée à Hawaï où elle a justifié la mise en place de programmes de lutte biologique avec introduction de parasites. L'abandon de la culture du riz dans l'archipel a entraîné l'interruption des observations.

L'introduction de la Pyrale du riz en France pourrait être plus ancienne qu'on ne le pense généralement car dès 1964 J. F. AUBERT (communication personnelle) y récoltait un parasite de l'espèce, *Centeterus alternecoloratus* CUSH., Ichneumonide, d'origine chinoise. Cette capture remet donc en cause non seulement les hypothèses concernant la date d'arrivée du ravageur, mais encore celles qui furent avancées à propos du chemin emprunté par lui.

Les premières observations concernant la susceptibilité des variétés de riz à l'égard de l'insecte sont dues à SHIRAKI, (1917). Elles furent ensuite répétées à plusieurs reprises (DOUGLAS et INGRAM, 1942 ; SEKO et KATO, 1950 ; VAN DER GOOT, 1952). Les études les plus suivies ont cependant pour auteurs divers chercheurs de l'Institut International de Recherches sur le Riz (I. R. R. I.). Elles débutèrent en 1960 (PATHAK, 1964, 1969 ; PATANAKAMJORN et PATHAK, 1967). Elles aboutirent dans le domaine pratique à la création d'hybrides présentant une résistance accrue.

En France, les premiers travaux de sélection remontent à 1948 (MARIE, 1955, 1963). Ils furent par conséquent menés jusqu'à une date récente avant que le ravageur ne soit introduit dans le pays. Il n'est donc pas sans intérêt, dans ces conditions, de vérifier le comportement des variétés actuellement cultivées en Camargue et celles qui sont appelées à l'être dans un proche avenir, lorsqu'elles sont exposées aux attaques de la Pyrale. Dans cette étude préliminaire, seules trois variétés de grande diffusion sont examinées.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le matériel végétal est constitué par les variétés « Delta », « Euribé » et « Balilla 28 ». La variété « Delta » est une sélection française proposée à la culture en 1970 (MARIE, 1971). Elle appartient à un type relativement précoce puisque dans les conditions françaises, son cycle végétatif est de 132 jours. « Euribé » est d'origine italienne et de cycle plus long (139 jours). « Balilla 28 », lignée tirée par l'I. N. R. A. de la population italienne « Balilla », est d'un type plus tardif encore que les précédentes. Cette dernière variété a figuré dans certains essais variétaux de résistance à *C. suppressalis* entrepris aux Philippines.

Les travaux devant être réalisés à l'extérieur sont mis en place dans une rizière expérimentale (1) située à proximité d'Arles. Afin de pouvoir disposer de plantes d'âge différent pour les essais entrepris au laboratoire, les semis sont effectués à trois reprises successives : le 28 avril 1973, date qui peut être considérée comme normale pour l'année, puis le 7 mai et enfin le 15 mai. Cette dernière date est alors extrêmement tardive.

Une série de quatre essais aux protocoles invariables est entreprise avec ce matériel aux dates suivantes : le 22 juin, période qui correspond au début de la première génération de la Pyrale, sur des plantes âgées de 38, 46 et 55 jours selon la date du semis ; le 5 juillet, à la fin du stade lar-

(1) Rizière expérimentale du mas d'Adrien prise en location par l'I. N. R. A. et conduite par la Station d'Amélioration des Plantes de Montpellier (Hérault).

vaire de cette génération ; le premier août et le 24 août, qui coïncident respectivement avec le début et la fin de la seconde génération. Au dernier essai, les plantes semées en premier lieu sont en place depuis 118 jours. Pour chacun de ces essais un certain nombre de plantes sont prélevées dans les neuf parcelles (trois variétés et trois dates de semis par variété). Ces plantes sont transportées au laboratoire et placées individuellement dans des godets remplis de terre, eux-mêmes immergés dans des récipients plus vastes. Une seule tige est conservée par plante. On dispose donc au total de vingt-cinq plantes par variété pour chacun des semis. On dépose alors sur chaque plante trois larves de *C. suppressalis* nées le jour même et issues des élevages du Laboratoire [1] (Guennelon et Soria, 1973). L'ensemble est placé dans une pièce climatisée à 21°C et en photopériode naturelle. Dix jours plus tard, les larves ayant réussi à s'installer sur le végétal sont dénombrées. Il est ainsi possible d'apprécier le taux de survie des insectes sur chacune des variétés lorsque l'âge de la plante varie de 38 à 118 jours.

Ces résultats obtenus au laboratoire sont mis en comparaison avec ceux que fournit l'examen des dégâts occasionnés par la Pyrale sur les mêmes variétés dans la parcelle expérimentale. Cet examen est répété à trois reprises pendant l'été : le 5 juillet tandis que se développe la première génération, le 26 du même mois après l'entrée en nymphose de cette génération, alors que les dégâts qu'elle a provoqués sont achevés, et enfin le 20 septembre au moment de la récolte. Dans chacune des neuf parcelles (5 m × 30 m), cinq emplacements d'un mètre carré sont choisis au hasard. Sur chacun d'eux, on prélève les plantes qui manifestent les symptômes d'une attaque : flétrissement ou jaunissement des feuilles, présence d'un orifice de pénétration dans la tige. Ces plantes supposées atteintes sont disséquées au laboratoire pour confirmation du diagnostic.

Enfin, et pour clore cette première série d'expérimentations, un élevage des larves de l'insecte est entrepris au laboratoire en utilisant comme aliment d'une part la variété « Balilla 28 », et de l'autre la variété « Euribé ». L'essai qui débute le 22 août est réalisé avec des plantes issues du dernier semis. Il est poursuivi pendant trente-trois jours. Vingt-cinq plantes sur lesquelles dix tiges sont conservées, sont repiquées en godets au laboratoire ; trois jours plus tard, deux larves nouvellement écloses sont installées sur chacune des tiges. A la fin de l'essai, les tiges sont disséquées, les larves dénombrées et pesées individuellement.

RÉSULTATS

La première série d'essais met en comparaison la réceptivité de plantes d'âge différent pour trois variétés. Les essais sont achevés le dixième jour, les larves étant retrouvées tantôt sur les feuilles ou dans les gaines foliaires, tantôt dans la tige elle-même, tantôt enfin pour les plantes plus âgées dans les épis ou les grains en formation. Les résultats (tabl. 1) sont exprimés en pourcentage de survie des insectes en fonction de l'âge de la plante et de la variété. La survie des jeunes larves de *C. suppressalis* est de l'ordre de 40 p. 100 pour l'ensemble des essais. Elle décroît régulièrement du premier essai effectué le 22 juin (60 p. 100) au dernier essai réalisé le 24 août (9 p. 100). Les taux de survie donnent en fonction du temps, des courbes (fig. 1) qui paraissent caractéristiques de la variété : pour « Euribé » ce taux fluctue autour de 45 p. 100 depuis la fin de la période de tallage jusqu'à la fin de la montaison (40e au 80e jour) ; il s'abaisse à l'épiaison mais excède encore 20 p. 100. La décroissance ne devient rapide qu'au-delà du 100e jour de végétation. Pour la variété « Delta », le taux de survie à la fin du tallage s'établit à 50-60 p. 100 c'est-à-dire qu'il est voisin ou légèrement supérieur à celui de la variété précédente, mais la décroissance de ce taux s'amorce plus précocement (70e jour), il devient négligeable au 100e jour. La courbe de la variété « Balilla 28 » atteint un maximum au 46e jour, mais elle subit ensuite une décroissance rapide. La période de réceptivité maximum est donc très étalée pour « Euribé », légèrement écourtée pour « Delta » et brève pour « Balilla 28 ».

[1] Nous remercions nos collègues G. Guennelon et F. Soria pour la fourniture de ce matériel.

TABLEAU I

Pourcentages de survie de Chilo suppressalis *observés sur chaque variété selon les dates du semis et de la réalisation des essais*

	Ier Essai (22-6)				IIe Essai (7-7)				IIIe Essai (1-8)				IVe Essai (24-8)				Moy. générale
N° du semis	1er	2^e^	3^e^	Moy.	1er	2^e^	3^e^	Moy.	1er	2^e^	3^e^	Moy.	1er	2^e^	3^e^	Moy	
Age des plantes (j)	55	46	38		70	61	53		95	86	78		118	109	101		
Variétés :																	
« Delta »	78,7	70,7	65,3	71,6	29,3	68,0	44,0	47,1	48,0	50,7	56,0	51,6	6,7	4,0	5,3	5,3	43,9
« Euribé »	61,3	61,3	41,3	54,7	45,3	60,0	49,3	51,6	40,0	28,0	61,3	43,1	6,7	20,0	32,0	19,6	42,2
« Balilla 28 »	54,6	69,3	38,6	54,2	21,3	49,3	23,3	32,0	5,4	30,6	26,6	20,8	1,3	4,0	13,3	6,2	28,3
Moyenne	64,9	71,6	48,4	60,2	32,0	63,6	39,6	43,6	31,1	36,4	48,0	38,5	4,9	9,3	16,9	9,4	38,1

L'analyse statistique des résultats a été faite par la méthode (t) de Student. Elle conduit aux conclusions suivantes : lorsque l'âge de la plante est compris entre 38 et 95 jours, la variété « Balilla 28 » est moins réceptive que les deux autres qui, en général, ne se distinguent pas entre elles. Il se pourrait toutefois que les jeunes plantes de « Delta » (38e jour) soient plus réceptives que les jeunes plantes d'« Euribé ». Au-delà du 95e jour, le comportement de « Delta » rejoint celui de « Balilla 28 ».

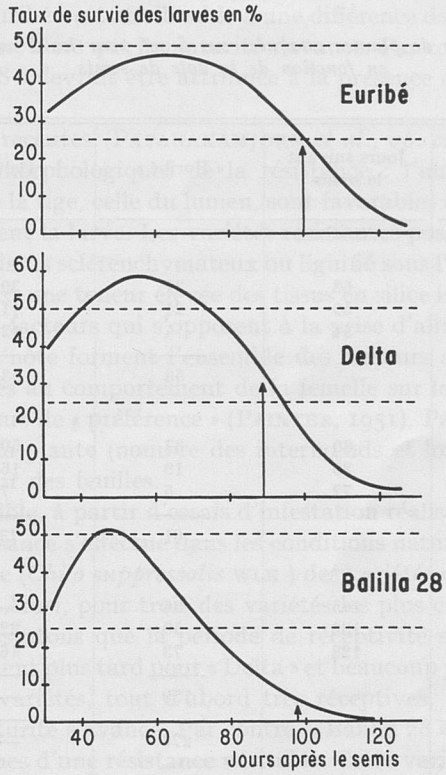


FIG. 1. — *Variation de la susceptibilité de trois variétés de riz vis-à-vis de* C. suppressalis *en fonction de l'âge de la plante*

Les flèches indiquent les dates moyennes du début d'épiaison en 1973 : « Delta » 89e jour, « Balilla 28 » 98e jour, « Euribé » 50e jour

Les résultats de l'estimation des dégâts provoqués par la Pyrale dans les conditions naturelles aux dépens de ces trois variétés figurent au tableau 2. Pour les deux observations effectuées dans le courant du mois de juillet, les dégâts observés sur la variété « Balilla 28 » sont toujours très inférieurs à ceux constatés sur « Euribé » et « Delta », quelle que soit la date du semis. Au moment de la récolte cependant, les variétés « Balilla 28 » et « Delta » ne se différencient plus l'une de l'autre, mais le nombre de plantes attaquées dans les semis d'« Euribé » est deux fois plus élevé. L'influence de l'âge est semblable pour les trois variétés : au mois de juillet, le semis le plus précoce est le plus attaqué alors que l'inverse se présente au mois de septembre.

Enfin, les résultats qui concernent l'alimentation larvaire de *C. suppressalis*

aux dépens de deux variétés différentes sont les suivants : la survie de 250 larves mises en élevage sur « Euribé » est de 54 p. 100 et seulement de 31 p. 100 sur « Balilla 28 ». Le poids moyen des larves à la fin de l'essai est de 33,364 mg sur la première variété et de 18,585 mg sur la seconde. La différence entre ces deux moyennes est hautement significative.

TABLEAU 2

Nombre de plantes attaquées sur 5 m² pour les 3 variétés en fonction de la date de semis

	Jours suivant le semis	« Euribé »	« Delta »	« Balilla 28 »
*I*re *estimation* (5-7-73)				
1re date de semis	68	31	30	12
2e — —	59	21	11	1
3e — —	51	4	12	0
TOTAL		56	53	13
*II*e *estimation* (26-7-73)				
1re date de semis	89	37	50	15
2e — —	80	19	16	2
3e — —	72	5	7	0
TOTAL		61	73	17
*III*e *estimation* (20-9-73)				
1re date de semis	145	36	— (1)	10
2e — —	136	50	22	27
3e — —	128	73	16	25
TOTAL		159	—	62
TOTAL par variété		276	—	92

(1) Cette donnée est manquante.

DISCUSSION ET CONCLUSION

La mortalité des larves déposées sur des plantes placées au laboratoire, et protégées par conséquent des aléas climatiques, des atteintes parasitaires, et de l'action des prédateurs, excède 20 p. 100 dans le meilleur des cas et atteint près de 99 p. 100 sur les chaumes mûrs de la variété Balilla 28. Le taux de survie qui en découle (fig. 1) traduit la faculté de l'insecte à s'établir puis à subsister sur le végétal. Ce taux n'est pas identique d'une variété à l'autre et il se trouve également fonction de l'âge de

la plante. Les maxima atteints par le taux de survie pour chaque variété diffèrent peu : 78,7 (« Delta »), 61,3 (« Euribé ») et 69,3 p. 100 (« Balilla 28 »). La période variable selon les variétés, pendant laquelle est manifestée la réceptivité maximum est encore mal précisée par cette expérimentation : pour « Balilla 28 » la survie est inférieure à 30 p. 100 dès le 70e jour ; pour « Delta », le taux chute brutalement au 100e jour, tandis que pour « Euribé » la décroissance de ce taux est plus progressive : la variété assure encore une survie de 20 p. 100 au 110e jour après le semis. La différence constatée entre « Delta » et « Euribé » est attribuable à une différence de précocité, la réceptivité de la plante diminuant alors que la maturité s'avance. Par contre, la moindre susceptibilité de « Balilla 28 » devrait être attribuée à la présence de caractères spécifiques de résistance.

Des recherches récentes (PATANAKAMJORN *et al., op. cit.*) ont mis en évidence certains caractères morphologiques de la résistance : l'importance des diamètres interne et externe de la tige, celle du lumen, sont favorables à la survie ; un épiderme lisse favorise également la larve. Les variétés résistantes possèdent généralement des couches épaisses de tissus sclérenchymateux ou lignifié sous l'épiderme. Des faisceaux vasculaires nombreux, une teneur élevée des tissus en silice influent défavorablement sur les attaques. Ces facteurs qui s'opposent à la prise d'aliments de la larve et à la vie à l'intérieur de l'hôte forment l'ensemble des facteurs antibiotiques, alors qu'il en existe d'autres liés au comportement de la femelle sur le point de pondre et qui constituent les facteurs de « préférence » (PAINTER, 1951). Parmi ces derniers, on cite surtout la taille de la plante (nombre des internœuds et longueur de ceux-ci) et la longueur et la largeur des feuilles.

Il est donc possible, à partir d'essais d'infestation réalisés au laboratoire sur des plantes dont la croissance s'effectue dans les conditions naturelles, d'apprécier la susceptibilité à la Pyrale (*Chilo suppressalis* WLK.) des variétés de riz en fonction de leur stade phénologique. Ainsi, pour trois des variétés les plus cultivées actuellement en Camargue, nous constatons que la période de réceptivité se termine très tôt pour « Balilla 28 », légèrement plus tard pour « Delta » et beaucoup plus tard pour « Euribé ». Ces deux dernières variétés, tout d'abord très réceptives, le deviennent beaucoup moins lorsque la maturité s'avance. Par contre, « Balilla 28 » présente sans doute des caractères plus proches d'une résistance véritable. Cette variété notamment se révèle comparativement à « Euribé » un aliment peu favorable à l'élevage des chenilles de *Chilo suppressalis* WLK. Le rapprochement des résultats obtenus avec cette variété d'une part au laboratoire au moyen de l'infestation artificielle, et d'autre part au champ par l'observation des populations naturelles semblerait indiquer que dans les conditions de la culture en 1973, le ravageur n'a mis que très imparfaitement à profit la courte période pendant laquelle « Balilla 28 » se montre réceptif. Il apparaît donc nécessaire de compléter les observations de laboratoire avec les observations effectuées au champ. Ces dernières présentent l'avantage d'intégrer la séquence comportementale de la femelle lors du choix du support de ponte.

Ces premières données sur la tolérance à la Pyrale des variétés de riz cultivées en France permettent de préciser les stades phénologiques les plus favorables à la réalisation de ces tests. Elles seront mises à profit dans la réalisation des essais de résistance qui entrent dorénavant dans les programmes de sélection effectués par la Station d'Amélioration des Plantes de Montpellier. Ces résultats permettent de supposer qu'il sera possible de limiter la période pendant laquelle au cours de la seconde

génération du ravageur, il sera utile d'intervenir lorsqu'on vise simplement à abaisser les dégâts causés à la récolte prochaine sans se soucier de réduire l'importance des populations hivernantes de la Pyrale.

Reçu pour publication en mars 1975.

SUMMARY

PRELIMINARY STUDY ON BEHAVIOUR OF *CHILO SUPPRESSALIS* WLK. TOWARDS THREE VARIETIES OF RICE CULTIVATED IN FRANCE

Three varieties of rice are tested for their resistance to attacks by *Chilo suppressalis* WLK. It is shown that larval survival of the insect is dependent on the age of the plant. The period of time for which the rice plant is highly receptive is characteristic of the variety. Damages observed at harvest are related to the susceptibility of the rice variety to the pest.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

DOUGLAS W. A., INGRAM J. W., 1942. Rice field insects. *U. S. D. A.*, circ. nº 632 (12-14).

DUFAY C., 1970. *Chilo suppressalis* WALKER, espèce nuisible au Riz découvert en France. *Alexanor*, **6** (7), 331-332.

ÉBERT G., 1973. Der Reisstengelbohrer *Chilo suppressalis* WALKER (Lep. Pyral.) Ein für Iran neuer schädling. *Ent. Phytopath. appl.* nº 35.

GRILLARD M., SÉGUY J. L., 1972. Effets d'une attaque de Pyrale (*Chilo suppressalis*) sur la qualité du grain de riz en 1971. *Bull. inform. Riziculteurs France*, **139**, 15-18.

GUENNELON G., SORIA F., 1973. Mise au point au laboratoire d'un élevage permanent de la Pyrale du riz, *Chilo suppressalis* WLK. (*Lepidoptera Pyralidae*) sur milieu artificiel. *Ann. Zool. Écol. anim.*, **5** (4), 547-558.

MARIE R., 1955. Contribution à l'étude du Riz en France. *Ann. Amélior. Plantes*, **5**, 463-535.

MARIE R., 1963. Deuxième contribution à l'étude du Riz en France. Obtention de variétés nouvelles par hybridation et mutagenèse induite. *Ann. Amélior. Plantes*, **13** (3), 175-219.

MARIE R., GRILLARD M., 1971. La question des variétés de riz. *La culture du Riz en France.* Broch. 108 p. Syndicat Riziculteurs de France.

PAINTER R. H., 1951. *Insect resistance in crop plants.* The Mac Millan Co, New York.

PATANAKAMJORN SOMPORN, PATHAK M. D., 1967. Varietal resistance of Rice to the asiatic Rice borer, *Chilo suppressalis* (*Lepidoptera Crambidae*) and its association with various plant characters. *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, **60** (2), 287-292.

PATHAK M. D., 1964. Varietal resistance to rice stem borer at I. R. R. I. *Proc. Symp. Major insect Pests of Rice.* Int. Rice Res. Inst. Los Banos, Laguna, Philippines.

PATHAK M. D., 1969. Stem borer and leafhopper-plant hopper resistance in rice varieties. *Ent. exp. et appl.*, **12**, 789-800.

SEKO H., KATO I., 1950. Studies on the resistance of rice to the attack of rice stem borer *Chilo simplex* BUTL. I. Interrelation between plant character and frequency of egg laying in the first generation of the rice stem borer (preliminary report). Sakumot sugoku Kai Kiji. *Proc. Crop. Sci. Soc. Japan*, **19**, 204-206.

SHIRAKI T., 1917. Paddy borers *Schoenobius incertellus* WALKER. *Taikoko agric. exp. Sta. Formosa*, 256 p. (in *Rev. Appl. Entomol.* (A), **5**, 574).

VAN DER GOOT P., 1952. Life history and control of the white rice borer in Java. *Meded. Inst. Plantenziek.* nº 66, 308 p. (in *Rev. Appl. Entomol.* (A), **3**, 466).

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (1), 101-106.

APERÇU SUR L'HÉRÉDITÉ DU CARACTÈRE ABSENCE DE TANINS DANS LES GRAINES DE FÉVEROLE (*VICIA FABA* L.)

J. PICARD

avec la collaboration technique de Nicole Berthaut, R. Pelletier et A. Gueneau

Station d'Amélioration des Plantes,
Centre de Recherches agronomiques de Dijon, I. N. R. A.,
B. V. 1540, 21034 Dijon Cedex

RÉSUMÉ

L'absence de tanins condensés dans les téguments de la graine de *Vicia faba* est gouvernée par des gènes récessifs.

Dans le matériel étudié deux gènes ont été identifiés. Ces deux gènes ont une action sur la synthèse d'anthocyanes dans l'ensemble de la plante. Les plantes homozygotes récessives pour au moins un de ces couples portent des fleurs blanc pur et des nectaires stipulaires incolores, facilitant ainsi la sélection. Ces gènes sont complémentaires et leur action interfère avec celle de certains gènes connus qui interviennent dans la coloration des téguments de la graine.

Les résultats d'essais d'alimentation d'animaux monogastriques avec des graines de Féverole (*Vicia faba* L.) utilisées en tant que source de protéines pour la ration, font en général apparaître une distorsion entre les performances zootechniques enregistrées et les performances que les résultats d'analyses (énergie, protéines, acides aminés indispensables) autorisent à attendre.

Parmi les causes possibles, les données rapportées par J. Martin *et al.* (à paraître) permettent d'évoquer les tanins contenus dans les téguments de la graine comme responsables éventuels de cette distorsion. Nous avons donc décidé d'entreprendre, en liaison avec la Station de Physiopathologie végétale du Centre de Recherches de Dijon (I. N. R. A.), un travail en vue d'obtenir des variétés de féverole sans tanins condensés.

Ce sont les premiers résultats de ce travail qui sont rassemblés ici en même temps que quelques données acquises antérieurement.

RECHERCHE DE GÉNITEURS « ZÉRO-TANINS »

Les données bibliographiques concernant la présence (ou l'absence) de tanins dans la graine de *Vicia faba* et le déterminisme génétique de ce caractère sont rares. A notre connaissance, elles se limitent aux travaux de DICKINSON *et al.* (1957) qui, étudiant un problème lié à la conserverie, avaient montré l'absence de leucoanthocyanes dans les grains de la variété de Fève, « Triple White », et à ceux de ROWLAND et CORNER (1962) qui confirment les précédents et indiquent qu'il en va de même pour une lignée de Féverole (Ch 170).

Ces deux types n'ayant pas, par ailleurs, des caractéristiques agronomiques intéressantes, il nous fallait élargir notre prospection et le test rapide proposé par J. MARTIN *et al.* [1] nous a permis de tester l'ensemble du matériel végétal dont nous disposions. Nous avons ainsi détecté, au cours des années 1973 et 1974, un ensemble de 10 variétés ou lignées de Fèves ou Féveroles dont les graines ne renferment pas de tanins (tabl. 1).

Il était d'emblée remarquable que toutes ces plantes avaient des fleurs blanches (blanc pur, dépourvues de pigmentation).

TABLEAU I

Variétés ou lignées porteuses du caractère « absence de tanins »

Sous-espèces	Variété ou lignée	Origine
Vicia faba major	« Bianka »	Hollande
	« Kompacta »	Hollande
	« Kochim »	Hollande
	« Wierboon »	Hollande
	371	Iran
Vicia faba equina à *Vicia faba minor*	Ch 170	Angleterre
	67	Angleterre
	E(2) (12)	Dijon
	Co-3-Bl-1-2-1-2	Rennes
	H 24	Dijon

LE CARACTÈRE « FLEUR BLANCHE » : DÉTERMINISME HÉRÉDITAIRE

Les plantes à fleurs blanches se caractérisent par l'absence de pigmentation visible sur les fleurs (absence de mélanine sur les ailes et d'anthocyane dans les nervures de l'ensemble des pétales), absence de pigment (sans doute mélanine) sur les

[1] La présence de leucoanthocyanes dans les téguments est mise en évidence par chauffage des graines (une demi-heure au bain-marie bouillant) en présence d'acide sulfurique N. Les leucoanthocyanes se transforment en anthocyanes.

nectaires des stipules, absence des traces plus ou moins marquées de pigments anthocyaniques sur les tiges. Il faut, par contre, remarquer que la coloration du hile de la graine (noire ou non pigmentée) n'est en rien influencée par le caractère fleur blanche.

Ce caractère de la fleur a été pour la première fois étudié par ERITH (1930) puis SIRKS (1931). Ces deux auteurs parviennent à la conclusion qu'il s'agit d'un caractère récessif monofactoriel mais il est impossible de rapprocher leur matériel végétal de celui dont nous disposons.

ROWLAND et CORNER montrent que le déterminisme est monofactoriel récessif chez « Triple White » et Ch 170. Il en va de même pour E(2) (12) étudié par PICARD (1963) à travers 15 descendances F_2 représentant plus de 7 000 plantes.

L'examen de 3 descendances F_2 obtenues à partir de la variété « Bianka », effectué en 1974, conduit au même résultat (480 plantes à fleurs colorées, 162 plantes à fleurs blanches avec une probabilité du test χ^2 voisine de 0,90 pour une disjonction 3-1).

LIAISON FLEUR BLANCHE : ABSENCE DE TANINS

Nous avons signalé précédemment que, parmi le volumineux matériel étudié, seules les 10 lignées ou variétés à fleurs blanches portaient des graines dépourvues de tanins.

En même temps qu'était examinée la pigmentation des plantes composant les 3 descendances évoquées ci-dessus, on a également réalisé, sur les graines de chaque plante, le test de mise en évidence des tanins. Sur les 642 plantes, il n'y eut aucune exception ; les 480 plantes à fleurs colorées portaient des graines dans lesquelles des tanins étaient présents, les 162 plantes à fleurs blanches portaient des graines sans tanins. Pour le gène porté par « Bianka », il y a liaison absolue entre « fleur blanche » et « absence de tanins ».

ROWLAND et CORNER rapportent la même situation pour des croisements, avec des effectifs plus faibles, utilisant « Triple White » et Ch 170.

ÉTUDE DE CROISEMENTS ENTRE PLANTES A FLEURS BLANCHES

ROWLAND et CORNER ont réalisé le croisement « Triple White » × Ch 170. Ils obtiennent : en F_1 des plantes à fleurs pigmentées (couleur normale) ; en F_2 une disjonction 9-7 (9 normales — 7 blanches) indiquant la présence de deux gènes complémentaires.

Nous avons eu l'occasion d'étudier les descendances de 3 types de croisements comparables.

Le croisement 67 × Ch 170 donne une F_1 à fleurs blanches et ne donne lieu à aucune disjonction en F_2. Les deux lignées portent le même gène fleur blanche.

Les croisements 67 × E(2) (12) et Ch 170 × E(2) (12) donnent tous les deux des plantes F_1 à fleurs colorées et en F_2 une disjonction dont les résultats figurent

au tableau 2. L'ajustement à une disjonction 9-7 (2 gènes complémentaires) est possible (croisement Ch 170 × E(2) (12)) mais difficile à admettre (croisement 67 × E(2) (12).)

TABLEAU 2

Disjonction en F_2 de deux croisements entre lignées à fleurs blanches

Croisement	Plantes à fleurs colorées	Plantes à fleurs blanches	Nombre total de plantes observées	Probabilité d'ajustement à 9-7
67 × E(2) (12)	1 029	656	1 685	$P < 0{,}001$
Ch 170 × E(2) (12)	354	235	589	$0{,}10 < P < 0{,}05$

L'ajustement est d'ailleurs bien meilleur avec une disjonction 9-6 qui supposerait la létalité du génotype double récessif. Cette hypothèse, vérifiable par croisement des individus F_2 à fleurs blanches aux deux parents, n'a pas été contrôlée.

L'observation d'une centaine de plantes F_2 pour la présence de tanins dans les graines a confirmé que, quel que soit leur génotype, les plantes F_2 ayant le phénotype fleurs blanches portaient des graines sans tanins.

Il est évidemment très important de connaître la nature des gènes que portent nos 10 origines de plantes à fleurs blanches. Les croisements nécessaires pour compléter ces connaissances sont en cours.

INTERACTION DU CARACTÈRE FLEUR BLANCHE AVEC D'AUTRES CARACTÈRES DE PIGMENTATION

Erith signale que ses plantes à fleur blanche portent des graines de couleur un peu différente de celle des plantes normales. Elle parle de « gris fumée ».

Sirks indique que les individus à fleurs blanches portent des graines gris-blanc qui ne deviennent pas brunes en vieillissant. Il ajoute que ces mêmes plantes n'ont jamais de graines violettes.

Parmi notre matériel à fleurs blanches, certaines lignées ou variétés ont effectivement des graines grises, d'autres ont des graines plus claires que les graines normales. Un point commun les rassemble : leur couleur, comme le signalait Sirks, n'évolue pas vers le bistre au cours de la conservation.

Nous avons eu l'occasion (Picard, 1963) d'étudier l'interaction du caractère fleur blanche porté par la lignée E(2) (12) avec un certain nombre de caractères de pigmentation de la graine. Nous en résumerons les conclusions.

En présence du caractère fleur blanche :

— le caractère graine violette (dominant) ne s'exprime pas,
— le caractère graine rouge (récessif) ne s'exprime pas,
— le caractère graine verte (récessif) s'exprime normalement,

— la plante portant le caractère graine marbrée (dominant) porte en fait des graines noires,
— le caractère graine noir (dominant) s'exprime normalement.

Nous avons eu la possibilité de démontrer que les graines noires correspondant aux deux dernières catégories ne réagissaient pas au test rapide de mise en évidence des tanins.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

L'absence de tanins dans les téguments de la graine de Féverole est placée sous la dépendance de gènes dont l'action s'exerce au niveau de la synthèse des anthocyanes ou de leurs précurseurs. Cette action se manifeste par l'absence de pigmentation dans l'ensemble de la plante, à l'exception de la couleur noire du hile de la graine et des téguments.

Il est donc possible de distinguer très tôt (nectaires des stipules) ou au plus tard à la floraison (fleurs blanches) les individus dont les graines ne renferment pas de tanins et facile de conduire une sélection.

Parmi les origines connues de plantes à fleurs blanches, les gènes portés par « Triple White », 67, Ch 170, E(2) (12) et « Bianka » ont été étudiés. Le caractère fleur blanche est monofactoriel récessif.

On sait actuellement que 67 et Ch 170 portent le même gène et que celui-ci est différent du gène porté par E(2) (12) et « Triple White ». On ne connaît pas la relation entre ces deux derniers. L'action des deux gènes dominants actuellement identifiés, qui contrôlent le caractère fleur blanche, est complémentaire. Ils agissent donc sans doute à des niveaux différents de la synthèse des anthocyanes.

Les croisements en cours entre nos différentes origines nous permettront d'identifier les gènes présents donc d'en déterminer le nombre et de connaître les relations qui existent entre eux.

L'existence de ces gènes devrait avoir une importance considérable au plan pratique en permettant d'obtenir des variétés sans tanins. Il importera au cours des différentes phases du travail de sélection (mise en lignées-réalisation d'hybrides, ...) de bien individualiser les génotypes « zéro-tanins ».

Leur existence devrait également permettre, dans la meure où on connaîtra leur action, de préciser la chaîne de synthèse des leucoanthocyanes dans l'espèce *Vicia faba*.

Reçu pour publication en mars 1975.

SUMMARY

SURVEY OF THE INHERITANCE OF ABSENCE OF TANIN IN FIELD BEAN SEEDS

Absence of tanin in the seed coat of field bean seeds is governed by recessive genes. Two of them have been identified. These genes block anthocyanin or anthocyanin precursors synthesis at different steps and give rise to white flowered plants.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

DICKINSON D., KNIGHT M., REES D. I., 1957. Varieties of broad beans suitable for canning. *Chem. and Ind.*, **16**, 1503.

ERITH A. G., 1930. The inheritance of colour, size, form of seeds and of flower colour in *Vicia faba* L. *Genetica*, **13**, 477-510.

MARTIN J., MARTIN C., GALLET M., 1974. Sur la présence de tanins condensés dans les graines de Sorgho et de Féverole et sur leur influence dans la diminution de digestibilité des protéines (à paraître).

PICARD J., 1963. La coloration des téguments du grain chez la Féverole (*Vicia faba* L.). Étude de l'hérédité des différentes colorations. *Ann. Amélior. Plantes*, **13**, 97-117.

ROWLAND D. G., CORNER J., 1962. Genetics of pigmentation in broad beans (*Vicia faba* L.). *C. R. Réunion Eucarpia*, Paris, 229.

SIRKS M. J., 1931. Beitrage zu einer genotypischen Analyse der Ackerbohne *Vicia faba* L. *Genetica*, **13**, 210-631.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (1), 107-113.

MISE EN ÉVIDENCE DE QUELQUES TYPES AUTOCOMPATIBLES PARMI LES CULTIVARS D'AMANDIER (*P. AMYGDALUS* BATSCH) DE LA POPULATION DES POUILLES

Ch. GRASSELLY et G. OLIVIER

Station de Recherches d'Arboriculture fruitière,
Centre de Recherches de Bordeaux, I. N. R. A.,
33140 Pont de la Maye

RÉSUMÉ

La découverte fortuite, en 1971, de l'autocompatibilité d'un cultivar d'Amandier originaire de la région des Pouilles (Italie), a conduit à rechercher systématiquement les possibilités d'autofécondation de 35 types, originaires de la même population géographique, rassemblés, dans une collection d'un Domaine expérimental de Manduel (I. N. R. A.) près de Nîmes.

Poursuivies en 1972, 1973 et 1974, ces recherches ont permis de constater l'autocompatibilité de cinq cultivars. Ceux-ci présentent trop de défauts pour être multipliés commercialement mais sont utilisés comme géniteurs dans un programme d'hybridation visant à l'obtention de cultivars autocompatibles.

INTRODUCTION

Malgré quelques très rares controverses, la plupart des auteurs ont confirmé depuis longtemps l'auto-incompatibilité générale de l'espèce Amandier cultivé (*P. Amygdalus*). TAYLOR (1918), puis TUFTS et PHILP (1922), en Californie, suivis de LUTRI (1935), SALA-ROQUETA (1941) et GAGNARD (1954) respectivement en Italie, en Espagne et en Algérie, ont montré que tous les cultivars d'Amandier étudiés étaient auto-incompatibles.

L'ensemble de ces travaux portait sur les principaux cultivars de ces différents pays. Ils étaient confirmés ensuite en Italie par SPINA (1956), MILELLA (1959) travaillant sur les types locaux de Sicile et de Sardaigne, et par SPIEGEL ROY et KOCHBA (1974) en Israël. En France, les travaux de biologie florale entrepris en

1954 permettaient de conclure à l'auto-incompatibilité des cultivars d'Amandier de Provence. Ces faits étaient d'ailleurs confirmés chaque année au cours des travaux réalisés dans le cadre des programmes d'hybridations. Des rameaux témoins conservés isolés sans être pollinisés, ne portaient pas de fruits.

L'auto-incompatibilité généralisée de cette espèce a conduit les chercheurs à préconiser des combinaisons convenables de cultivars intercompatibles et de même époque de floraison. Elle oblige les producteurs à implanter dans le même verger, en même temps qu'un cultivar principal, une certaine proportion d'arbres d'un ou de deux cultivars pollinisateurs. Mais ces pollinisateurs ne présentent pas toujours des caractéristiques intéressantes à un niveau très élevé et leur présence dans les verger rendent obligatoires des récoltes séparées en raison des différentes formes des fruits et des différentes époques de maturité. Pour pallier cet inconvénient, quelques chercheurs, comme KESTER (1966) ont envisagé l'obtention de cultivars pollinisateurs possédant des caractéristiques très voisines qui permettraient, d'une part, de les récolter en mélange et, d'autre part, d'augmenter la proportion des pollinisateurs.

Ces derniers ne constitueraient plus un cultivar de second ordre et leur proportion pourrait monter à 50 p. 100 des arbres (une ligne sur deux) améliorant considérablement la pollinisation.

La solution idéale demeure cependant l'obtention de cultivars autocompatibles et c'est à cette recherche que travaillent certains obtenteurs et chercheurs.

KESTER, en Californie, a entrepris un vaste et long programme à partir d'un croisement interspécifique Pêcher × Amandier suivi de recroisements avec Amandier.

DE ALMEIDA a signalé en 1945 l'existence de deux variétés autocompatibles sur 23 observées. Mais cette découverte ne semble pas avoir eu de suite.

A son tour, JAOUANI (1973) fait état de la découverte d'un cultivar autocompatible dans les collections de l'Ariana : « Mazzetto », d'origine Lybienne. En 1971, nous avions fait fortuitement une découverte analogue dans nos collections variétales rassemblées près de Nîmes, sur la variété « Filippo Ceo ».

Simultanément, était signalée l'autocompatibilité d' « Exinograd » dans les vergers de collection de Chypre. Plus récemment, MONASTRA a signalé l'autocompatibilité de « Genco ».

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les études réalisées sur l'Amandier depuis 1952 à l'Institut national de la Recherche agronomique, ont permis de mettre en évidence l'existence de populations géographiques qui se sont formées sous l'action de la sélection naturelle et humaine chez cette espèce allogame, multipliée par semis jusqu'au siècle dernier. Ces populations présentent des caractères morphologiques et physiologiques particuliers et constituent un matériel génétique particulièrement intéressant pour un programme d'amélioration. C'est ainsi que la plupart des cultivars de la région des Pouilles (Italie du Sud) présentent un certain nombre de caractères communs : bouton floral très pubescent, fleurs groupées par deux dans le bouton, graines doubles, coque dure, type de fructification en bouquet de mai, époque de floraison tardive.

En 1971, dans les collections variétales rassemblées près de Nîmes, des hybridations étaient réalisées entre les cultivars de cette dernière population.

Ces hybridations, réalisées entre cinq types étaient entreprises afin de contrôler les possibilités d'intercompatibilité, les similitudes morphologiques et physiologiques de ces cultivars pouvant laisser supposer qu'il existait des cas d'inter-incompatibilité.

Quelques rameaux du cultivar « Filippo Ceo » dont les fleurs avaient été isolées produisirent des fruits.

Afin de vérifier cette observation, des rameaux fleuris furent à nouveau isolés en 1972 sous manchons de papier sulfurisé. Les 617 fleurs ainsi protégées donnèrent 121 fruits, soit un rendement de 19 p. 100 (fig. 1).

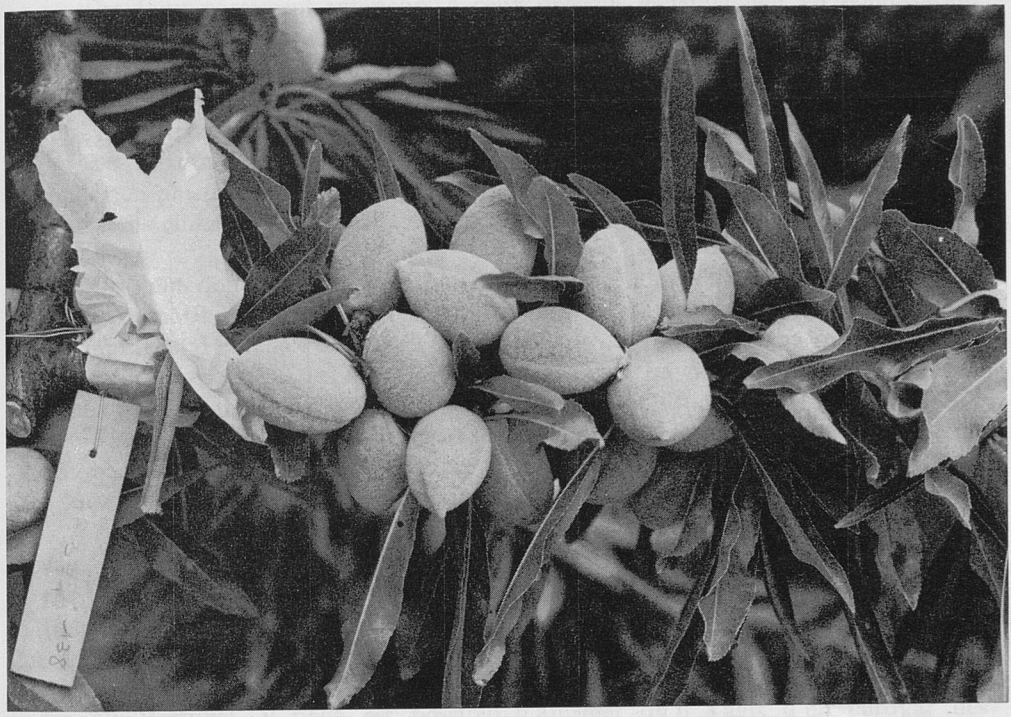


FIG. 1. — *Rameau de la variété « Filippo Ceo » ayant été isolé à la floraison*
(20 fruits sur 138 fleurs)

En 1973, la plupart des types des Pouilles existant dans les collections de l'I. N. R. A. furent l'objet de ce même test. Des manchons de papier sulfurisé furent posés sur 35 cultivars, le nombre de rameaux ensachés variant de 4 à 19 représentant 200 à 700 fleurs par cultivar.

En 1974, de nouvelles autofécondations furent rédalisées.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les résultats de ces autofécondations sont rassemblés dans les tableaux 1 et 2.

Il est utile de préciser que l'authenticité des dénominations n'est pas sûrement établie ; les greffons récoltés lors d'une prospection dans cette région d'Italie ont reçu les noms donnés par les arboriculteurs. C'est pour cette raison que les numéros de clones sont mentionnés. Les deux clones des cultivars « Genco » et « Santoro » sont identiques, seuls leur état sanitaire diffère. Dans le cas du cultivar « Fragiulio », les deux clones paraissent morphologiquement semblables, mais leurs époques de floraison sont différentes.

TABLEAU I

Autofécondation des variétés d'amandiers des Pouilles (1973)

N° de clones	Variétés	Nombre de rameaux ensachés	Nombre de fleurs	Nombre de fruits	Pourcentage d'auto-fécondation
354	« Filippo Ceo »	19	1 856	242	13,0
530	« Fragiulio »	6	137	0	0
531	« Montrone »	3	30	0	0
532	« Santoro »	8	210	0	0
533	« Santoro »	14	490	0	0
534	« Occhiorosso »	13	412	15	5,2
535	« Sanzarte »	9	275	0	0
536	« Rana »	15	578	0	0
537	« Biancadda »	17	702	0	0
538	« Fragiulio »	9	286	0	0
540	« Rachele »	30	599	0	0
541	« Genco »	17	501	94	18,7
542	« Caputo »	15	556	0	0
543	« Genco »	8	285	30	13,2
544	« Cristomorto »	4	149	9	6,5
545	« Filippo Ceo »	9	380	29	7,6
546	« Mincone »	19	495	1	0
548	« Vuio non Vuoi »	18	702	1	0
549	sans nom	18	710	0	0
550	—	7	33	0	0
551	—	8	368	0	0
552	—	10	427	23	6,9
553	—	14	574	0	0
555	« Cascione »	9	211	0	0
556	sans nom	9	275	0	0
558	—	10	380	0	0
560	—	13	453	0	0

TABLEAU 2

Pourcentages d'autofécondation observés sur les variétés d'amandier en 1974

Variétés	Nombre de rameaux	Nombre de fleurs isolées	Pourcentage d'auto-fécondation
« Filippo Ceo » R. 354	7	357	3,0
« Genco » R. 541	6	247	7,8
« Genco » R. 543	4	111	9,2
Sans nom R. 552	4	271	8,3
« Occhiorosso » R. 534	4	138	2,7
« Tuono » R. 219	11	498	7,0

Les deux clones de « Filippo Ceo » sont probablement identiques.

Le cultivar introduit sous le nom de « Cristomorto R 544 » est différent de la souche R 210 utilisée depuis 1960 dans les programmes d'hybridations. On constate, à la lecture du tableau 2, que deux cultivars donnent des taux d'autofécondation relativement importants : « Filippo Ceo » et « Genco ».

Ces taux paraissent inférieurs à ceux obtenus généralement en pollinisation libre. Dans le cas rapporté ici, le pollen s'est déposé sur les pistils du fait de l'agitation naturelle des rameaux ensachés ; la pollinisation manuelle aurait probablement donné un résultat supérieur. Il ne faut pas non plus sous-estimer le facteur défavorable constitué par l'ensachage.

Les résultats observés en 1974 (tabl. 2) laissent apparaître des taux d'autofécondation plus faibles que ceux des années précédentes, mais il faut préciser que les conditions climatiques ont été très défavorables, la neige étant tombée pendant la floraison.

On peut donc affirmer que ces cultivars sont autocompatibles. Ce caractère d'autocompatibilité est probablement apparu à la suite de la transformation par mutation d'un allèle de la série *S* en un allèle *Sf*, si son déterminisme est le même que celui observé chez les autres *Prunus* (Crane et Lawrence, 1956) ce qui nous paraît une hypothèse raisonnable.

Cette mutation a pu apparaître et se développer dans cette population géographique à la faveur de la multiplication par semis, car elle constitue, pour cette région à hiver et printemps froids, un avantage cultural important.

Les cultivars autocompatibles auront en effet probablement été remarqués et conservés par les arboriculteurs, en raison de leur aptitude à produire malgré les conditions climatiques défavorables pouvant survenir au moment de la floraison, (pluie, froid, brouillard).

Il est d'autre part intéressant de signaler que l'un des deux cultivars trouvés autocompatibles par De Almeida est dénommé « Duro Italiano ». Or, pour l'avoir vu au Portugal, il nous est possible d'affirmer qu'il s'agit d'un cultivar des Pouilles.

D'autre part, Jaouani (1974) a observé la ressemblance étroite, sinon la synonymie entre « Mazzetto » et « Tuono ». Ceci confirme l'hypothèse de la particularité génétique des amandiers de cette région.

Ces cultivars autocompatibles présentent malheureusement des caractères agronomiques défavorables qui ne permettent pas d'envisager leur multiplication.

Comme la plupart des cultivars qui constituent cette population, leurs fruits contiennent des proportions importantes de graines doubles, ce qui représente pour l'industrie un défaut grave.

Les programmes d'amélioration entrepris à l'I. N. R. A. pour introduire le caractère d'autocompatibilité ont commencé en 1972. Des individus issus de croisements, réalisés en 1968, avec le cultivar « Tuono » avant que son autocompatibilité ait été reconnue, sont actuellement en cours d'observation : ils sont tous autofécondés afin de déterminer, par la proportion d'individus autocompatibles, l'héritabilité du caractère.

D'autre part, les amandes issues des autofécondations des différents cultivars autocompatibles ont été semées. Ceci doit permettre d'obtenir des individus homozygotes *Sf Sf*.

Nous avons cependant pu observer un effet d'inbreeding chez ces semis issus d'autofécondation qui montrent, en plus d'une diminution de vigueur, certaines difficultés dans la germination (cas fréquents de non développement de la plantule et de pourriture des cotylédons).

Ces difficultés dans la germination avaient d'ailleurs été observées dans le passé lorsque des cultivars, reconnus maintenant comme autocompatibles, étaient utilisés comme parent femelle. Cette observation a été également faite par A. JAOUANI en Tunisie.

Ces descendants issus d'autofécondation présenteront évidemment un intérêt pour des études génétiques ultérieures.

Reçu pour publication en mars 1975.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier particulièrement MM. P. CROSSA RAYNAUD, J. HUGARD et Y. LESPINASSE, pour l'aide qu'ils nous ont apportée dans la rédaction de ce travail.

SUMMARY

DEMONSTRATION OF SOME SELF-COMPATIBLE TYPES AMONGST THE ALMOND-TREE CULTIVARS (*P. AMYGDALUS* BATSCH) OF THE APULIAN POPULATION

The accidental discovery, in 1971, of the self-compatibility of an Almond cultivar originating from Apulia (Italy) led to the systematic research of the self-fertilization possibilities of 35 types, originating from the same geographic population, grouped in a collection at Manduel experimental Station (I. N. R. A.) near Nîmes.

This research was carried on in 1972, 1973 and 1974 and from it was found that five cultivars are self-compatible. These possess too many defects to be commercially propagated but are being used as parents in a hybridization programme which aims at obtaining self-compatible cultivars.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANONYME, 1972. Annual Report of the Cyprus agricultural Research Station for 1972. Section Horticulture, Nicosia (Cyprus).

ANONYME, 1974. Les variétés fruitières et cépages recommandés en Tunisie. *Doc. Tech. INRAT*, **67**, 83 p.

ALMEIDA C. R. (de), 1945. Acerca de improdutividade na amendoeira. *An. Inst. super. Agron.* **15**, 84 p.

CRANE R. B., LAWRENCE N. J., 1956. *The genetics of Garden plants*. McMillan, 302 p.

GAGNARD J.-M., 1954. Recherches sur les caractères systématiques et sur les phénomènes de stérilité chez les variétés d'Amandier cultivées en Algérie. *Ann. Inst. agric. Serv. Kech. exper. agric. Algérie*, **8**, 2, 163 p.

GRASSELLY Ch., GALL H., LEGLISE P., 1969. Étude pomologique de quarante variétés d'amandiers *Bull. tech. Inf.*, **241**, 507-521.

GRASSELY Ch., 1972. *L'Amandier. Caractères morphologiques et physiologiques des variétés. Modalités de leur transmission chez les hybrides de première génération.* Thèse Faculté de Bordeaux. 153 p.

JAOUANI A., 1973. Étude de l'autocompatibilité de la variété « Mazzetto ». *Rapp. Activ. Lab. Arbo. Fruit. INRAT* (Tunisie), p. 20.

JAOUANI A., 1974. (Communication personnelle).

KESTER P. E., 1966. A review of almond varieties. *Agri. Ext. Serv. Univ. Calif.* 14 p.

LUTRI I., 1935. Indagine sull'autosterilità e sull' autofertilita del Mandorlo. *Ital. agric.*, **72**, 139-155.

MONASTRA F., 1974. (Communication personnelle).

MILELLA A., 1959. Richerche sulle biologie florale del mandorlo in Sardegna. *Riv. del. Orto. Ital.*, **43**, nº 7-8, p. 322.

NAURIYAL J. P., RANA R. S., 1965. Pollinisation studies in almond. *Indian J. Hort.*, **22**, 1-9.

SALA ROQUETA, 1941. Sobra la polinizacion del almandro « Desmayo ». *Anal. Esc. Agric. Barcolona*, p. 1, 43, 56.

SPIEGEL-ROY P., KOCHBA J., 1974. The inheritance of bitter and double kernel characters in the Almond (*Prunus amygdalus* BATSCH). *Z. Pflanzenzücht.*, **71**, 319-329.

SPINA P., 1956. Richerche sur la biologia florale del mandorlo in Sicilia. *Tech. agric* (Catania), nº 7-8, 310-322.

TAYLOR R. H., 1918. The Almond in California. *Berkeley*, bull. 297.

TUFTS W. P., PHILP G. L., 1922. Almond pollination. *Univ. Calif. Agric. exp. Stat., Berkeley, bull.* 346, 35 p.

WOOD M. N., 1937. Almond culture in California. *Calif. agric. ext. Serv. Circ.*, **103**, 87 p.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (1), 115-116.

CHRONIQUE DES LIVRES

LES ACTES DES CONFÉRENCES INTERNATIONALES POUR LA PROTECTION DES OBTENTIONS VÉGÉTALES. — Paris 1957-1961, Genève 1972 [1].

Le 14 février 1957, le Gouvernement français prenait l'initiative d'inviter un certain nombre d'États de l'Europe occidentale à une Conférence diplomatique en vue d'essayer de jeter les bases d'un système de protection des droits des créateurs ou obtenteurs de nouvelles espèces ou variétés de plantes.

Cette invitation faisait suite à un vœu particulièrement pressant qui lui avait été adressé en 1956 par l'Association internationale des sélectionneurs pour la Protection des Obtentions végétales. Depuis une cinquantaine d'années en effet, les milieux professionnels de l'amélioration des plantes du monde entier demandaient au législateur d'élaborer un système de protection de leur droit sur leurs créations, afin de pouvoir bénéficier des mêmes avantages que le Brevet industriel procure aux inventeurs.

Toutefois, le fait que l'objet du droit était constitué par une matière vivante avait jusque-là découragé les juristes, peu versés dans la biologie et la génétique.

L'invitation du Gouvernement français fut acceptée avec empressement et curiosité par les États intéressés. Après une première réunion qui s'est tenue à Paris du 7 au 11 mai 1957, la Conférence s'est ajournée après avoir demandé au Gouvernement français de réunir un Comité composé d'experts des différents États participant à la Conférence, avec pour mission d'établir, sur la base des principes qui avaient été retenus au cours des journées des 7-11 mai, un avant projet de Convention. La Conférence se réunira à nouveau à la fin du mois de novembre 1961, pour examiner le travail des experts, et se terminera par la signature à Paris le 2 décembre 1961 de la Convention que l'on connaît. Une révision aura lieu à Genève en 1972 sur des points mineurs, touchant principalement au fonctionnement financier pour faciliter l'adhésion de petits États ou d'États en voie de développement.

Les travaux du Comité des experts, dont la présidence fut confiée à M. BUSTARRET, ancien Directeur de la Station centrale d'Amélioration des Plantes de Versailles, et à l'époque Inspecteur général de la Recherche agronomique, sont particulièrement instructifs et uniques en leur genre : à partir de données scientifiques et techniques que les experts ont eu le mérite de dégager avec une grande rigueur et une grande clarté, ils ont abouti à la construction d'un système juridique, dans lequel est défini pour la première fois la nature du droit de l'obtenteur, son objet, ses limites, sa durée, et ses modalités d'exercice.

Or ces travaux, dont la lecture est particulièrement intéressante car elle permet de suivre l'évolution de la pensée des experts à partir de données générales jusqu'à un système solidement structuré, étaient demeurés inaccessibles.

L'Union internationale pour la Protection des Obtentions végétales a eu le grand mérite de reprendre les archives des Conférences précitées, et de les publier sous la direction de l'ancien Secrétaire de la Conférence, M. LACLAVIÈRE.

L'ouvrage se présente sous forme d'un volume relié de 216 pages, format 21 × 30, comprenant à la fin un index comportant par article le renvoi aux interventions des différents pays, un index par matière, un index par États, un index des organisations et un index des personnalités qui sont intervenues au cours de la Conférence ou des réunions d'experts.

Il s'agit là d'un instrument de travail particulièrement utile, et particulièrement facile à consulter, pour étudier la genèse de cette institution nouvelle que constitue la protection du droit de l'obtenteur.

[1] Ce volume de 216 pages peut être commandé directement auprès de l'Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (O.M.P.I.), Section des Publications, 32, chemin des Colombettes, 1211 Genève 20 (Suisse) au prix de 60 francs suisses.

Cet ouvrage de caractère historique n'en est pas moins très actuel, car l'idée lancée par la France en 1957 a fait tache d'huile, et ne cesse de se répandre dans le monde.

En effet, les États suivants ont déjà adopté une loi conforme aux principes de la Conférence de Paris de 1961 : la République fédérale d'Allemagne, la République démocratique allemande, l'Argentine, la Belgique, le Danemark, l'Espagne, la France, la Hongrie, Israël, l'Italie, le Kenya, la Nouvelle-Zélande, les Pays-Bas, le Royaume-Uni, la Suède et la Suisse.

De nombreux autres États ont actuellement des textes à l'étude ou en préparation, et ont manifesté leur intention d'instituer à plus ou moins brève échéance une législation de protection basée sur les principes de la Convention de 1961.

L'ouvrage publié par l'Union internationale pour la Protection des Obtentions végétales, sous le titre « Actes des Conférences internationales pour la Protection des Obtentions végétales », constitue donc un document de base d'une très grande valeur pour les juristes, et pour les milieux professionnels intéressés par la production et le commerce des semences.

ZEVEN (A. C.), ZHUKOVSKY (P. M.). — DICTIONARY OF CULTIVATED PLANTS AND THEIR CENTRES OF DIVERSITY. EXCLUDING ORNAMENTALS, FOREST TREES AND LOWER PLANTS. — Wageningen, Centre for Agricultural Publishing and Documentation : 219 p., tabl. fig. (s. n.)-1975.

Cet ouvrage, en anglais, est en quelque sorte une deuxième édition, très augmentée, du travail de ZHUKOVSKY. (*World genofund of plants for breeding. Mega-gene centres and endemic micro-centres*). Leningrad : 87 p. (1970), édition où le nombre d'espèces passe de 700 à environ 2 300.

Le livre, fort bien édité et illustré de cartes de répartitions géographiques et figures de nombreuses espèces, traite de toutes les plantes cultivées et des espèces affines, utilisables pour l'amélioration, espèces tempérées et tropicales, arbres, arbustes fruitiers, plantes médicinales, plantes à alcaloïdes ou à substances chimiques (parfums, substances insecticides...), mais exclut les arbres forestiers et la plupart des plantes d'intérêt purement ornemental.

L'ouvrage comporte essentiellement les deux chapitres suivants :

1. Origines de l'agriculture et domestication des plantes.
2. Berceaux agricoles et centres de diversité génique. Les centres de diversité sont passés en revue de 1, Centre sino-japonais à 12, centre nord-américain et plantes à centre d'origine inconnu. Pour chaque centre de diversité, les familles et les espèces sont passées en revue dans l'ordre alphabétique.

Le livre comporte enfin une bibliographie très précise de plus de 500 références et un index alphabétique des noms scientifiques des espèces.

Il est certain que cet ouvrage assez complet, sans doute peu coûteux, concerne tous les chercheurs intéressés à l'Amélioration des Plantes, à l'histoire de l'agriculture, à l'Ethnobotanique, et devrait trouver sa place dans de nombreuses bibliothèques.

On peut regretter que plusieurs noms scientifiques ne soient pas en accord avec la nomenclature botanique moderne, par exemple avec des noms des listes stabilisées de l'I.S.T.A. (Association internationale d'Essais de Semences) : *Arrhenatherum avenaceum* BEAUV. utilisé au lieu de *A. elatius* (L.) J., et C. PRESL., *Triticum aestivum* (L.) THELL. au lieu de *T. aestivum* L., *Phragmites communis* TRIN. au lieu de *P. australis* (CAV.) TRIN. ex STEUDEL, *Lycopersicon esculentum* au lieu de *L. lycopersicum* (L.) MANSFELD ex FARWELL. *Mentha rotundifolia* au lieu de *M. suaveolens* EHRH.

On peut aussi regretter, dans une certaine mesure, qu'aucun nom commun, par exemple anglais, n'ait été cité dans l'index alphabétique, qui, en outre, comporte fort peu de synonymes usuels (par ex. on voit *Lycopersicon esculentum*, mais pas *Solanum lycopersicum*). Sans doute un glossaire de noms communs ou vernaculaires est-il une entreprise bien considérable pour un nombre d'espèces d'environ 2 300!

M. K.

ADDENDUM

Dans l'article de P. JACQUARD : « Concurrence intraspécifique et potentialités de rendement », paru dans les *Annales de l'Amélioration des Plantes*, 1975, **25** (1), 3-24, la figure 1, page 5, est redessinée d'après POISSONET, 1972 ».

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (1).

CONTENTS

A. Gallais. — On the meaning of the general combining ability 1

P. L. Lefort. — Contribution to the analysis of the Cotton plant's genetic systems 15

E. Pochard, M. Clerjeau, M. Pitrat. — Resistance of the Pepper, *Capsicum annuum* L. to *Phytophthora capsici*. I. — Evidence for a progressive induction in the stem of the plants 35

P. Auriau, J. C. Autran, L. Charbonnier, G. Doussinault, P. Feillet, B. Godon, P. Grignac, P. Joudrier, K. Kobrehel, J. Koller, M. Rousset, S. Rivallant. — Genetic variability of gliadins, glutenins β-amylases, α-esterases, peroxidases, acid phosphatases composition in Wheat (*T. aestivum*) 51

M. Bernard. — Study of cytological, morphological and agrotechnical characteristics of six Wheat-Rye addition lines 67

P. F. Galichet, S. Poitout, T. F. Loma. — Preliminary study on behaviour of *Chilo suppressalis* wlk. towards three varieties of Rice cultivated in France 93

J. Picard. — Survey of the inheritance of absence of tanin in Field Bean seeds 101

Ch. Grasselly, G. Olivier. — Demonstration of some self-compatible types amongst the Almond tree cultivars (*P. Amygdalus* batsch) of the Apulian population 107

Books reviews 115

RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Le manuscrit doit être dactylographié sur papier format 21 × 29,7, avec un double interligne, au recto seulement. Chaque page sera numérotée et des feuilles *séparées* seront utilisées pour les références bibliographiques, les tableaux, les légendes des figures et graphiques, etc.

Au début de chaque mémoire, on indiquera : — *le titre du mémoire ;* il ne devra pas comporter d'abréviations ni de formules chimiques (sauf pour les isotopes) ; — *le nom des auteurs*, précédé des initiales du prénom pour les hommes, du prénom complet pour les femmes ; — *le nom des techniciens* ayant collaboré à l'étude relatée, précédé de la mention : avec la collaboration technique de... ; *le nom de l'établissement*, dans lequel ont été effectuées les recherches et son adresse.

Les mémoires seront rédigés, autant que possible, d'après le plan ci-dessous :
a) *résumé* (250 mots max.) suffisamment précis pour que sa lecture renseigne sur la nature du travail et son importance ; b) *introduction* dans laquelle on indique l'objet des recherches entreprises en relation avec les travaux déjà effectués dans le domaine ; c) *techniques expérimentales et matériel utilisé*, en donnant, sous une forme concise, tous les détails nécessaires pour que le lecteur puisse répéter les expériences ; d) *résultats*, à présenter de la manière la plus brève possible ; e) *discussion* et *conclusion ;* f) *titre et résumé* en anglais ou destiné à être traduit en anglais comportant une analyse *complète* de l'article ; g) *remerciements* pour les collaborations, les fonds, les dons... ; h) *références bibliographiques.*

Les travaux originaux en anglais doivent présenter la même composition que les mémoires rédigés en français, mais ils comportent obligatoirement un résumé français *très complet.* Les figures, graphiques, tableaux et photographies seront sous-titrés en français.

Pour les autres documents (notes, mises au point, revues, rapports, etc.), l'auteur devra suivre un plan logique et le mettre en évidence par une titration appropriée.

Les références bibliographiques doivent être citées dans le texte de la manière suivante : (Dupont et Duval, 1954). Lorsque la référence comporte plus de trois auteurs, seul le premier sera mentionné, suivi de *et al.* A la fin de l'article, les références constituant la bibliographie doivent être citées par ordre alphabétique des noms d'auteurs, et par ordre de dates pour un même auteur.

Pour les articles : le (s) nom (s) de (s) auteur (s) suivi (s) des initiales du (des) prénom (s) ; la date de parution de l'article ; le titre de l'article (dans la langue originale pour l'allemand, l'anglais, l'italien, l'espagnol et en français dans tous les autres cas, avec indication entre parenthèses de la langue d'origine, sauf si l'auteur étranger a sous-titré dans l'une des quatre langues mentionnées) : le titre du périodique en abrégé, selon la *World List of Scientific Periodicals*, ou le *Bulletin Signalétique du C. N. R. S. ;* le volume, la première et la dernière page de l'article.

Pour les ouvrages : le nom de l'auteur avec les initiales du prénom ; la date de l'édition ; le titre complet de l'ouvrage dans la langue originale, sans abréviations (pour les langues utilisant des alphabets autres que l'alphabet latin, la traduction du titre sera donnée entre parenthèses, avec mention de la langue d'origine) ; le volume ; la première et la dernière page du paragraphe se rapportant aux résultats discutés, et, si l'on cite l'ouvrage en entier, le nombre de volumes et le nombre total de pages ; le numéro de l'édition s'il y en a plusieurs ; le nom de l'éditeur ; le lieu de l'édition. Si l'ouvrage est collectif, on indiquera en plus le nom de l'auteur du chapitre cité, le nom des rédacteurs principaux, précédé de la mention « in », le titre de l'ouvrage.

La mention de « communications personnelles » ou « données non publiées » etc. doit être faite entre parenthèses. Lorsque l'auteur a relevé une référence dans une revue d'« Abstracts », le mentionner à la fin de la référence, entre parenthèses.

Les tableaux, dessins, graphiques, cartes, photographies, doivent être fournis à part. Les tableaux et figures doivent faire l'objet de deux numérotations distinctes, en chiffres arabes l'une et l'autre.

Les auteurs peuvent disposer leurs tableaux soit dans le sens de la largeur de la revue, soit dans le sens de la longueur. Dans le sens de la largeur, le total des signes et des espaces disponibles est de 100. Dans le sens de la longueur, il est de 155. Les tableaux en longueur, c'est-à-dire ceux pouvant disposer de 155 signes, ne seront admis que s'ils comprennent plus de 8 lignes de chiffres, de manière qu'une page entière de la revue ne soit pas occupée par un tableau très long et très étroit. Les graphiques ne doivent pas faire double emploi avec les tableaux.

Les légendes et les énoncés des graphiques et dessins doivent être dactylographiés sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

Les graphiques, schémas, cartes, dessins d'appareils seront envoyés soit *à l'état définitif* soit *à l'état de projets*, leur exécution définitive étant confiée au Bureau de Dessin de l'I. N. R. A. Seules deux réductions à l'impression sont admises : *soit* × 0,5, *soit* × 0,25.

Il est rappelé que le format utile des *Annales* est : 12,5 × 19 cm ; ces dimensions ne doivent pas être dépassées.

Photographies : Il est recommandé de fournir des épreuves bien contrastées sur papier blanc, et de préférence en format 9 × 12. Si les photographies doivent être associées pour constituer des planches, on adoptera les normes suivantes : 2 photos : 9 × 12 ; 4 photos : 9 × 5,5 ; 6 photos : 5,5 × 5,5. Dans ce cas, chaque photo devra porter un numéro en chiffres arabes visible après clichage.

Les légendes des photographies doivent être dactylographiées sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

Il est demandé d'indiquer sur le manuscrit, dans la marge, en regard du texte, l'emplacement souhaité des tableaux et figures.

Envoi du manuscrit : M. Rives ; Centre de Recherches de Bordeaux, 33140 Pont de la Maye, France. On demande deux exemplaires.

Correction des épreuves : les épreuves que les auteurs recevront à corriger sont à retourner, après correction, à cette même adresse.

Le Directeur de la publication : M.-L. CAGNAC

Imprimerie Bussière à Saint-Amand (Cher), France. — 12-1975

Dépôt légal : 4e trimestre 1975. N° d'impression : 1663

CPPAP n° 26633

annales de l'amélioration des plantes

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE
I. N. R. A.
Centre de Recherches de RENNES
STATION D'AMÉLIORATION DES PLANTES
B.P. 29 - 35650 LE RHEU
Tél. : (99) 00.71.92

Trimestriel

1976

Vol. 26 . N° 2

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

Reproduction, même partielle, interdite sans autorisation des auteurs
et de l'Institut national de la Recherche agronomique
à l'exception des résumés

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (2), 117-138.

LA NOTION DE PROGRAMME GÉNÉTIQUE CHEZ LES VÉGÉTAUX SUPÉRIEURS

I. — Aspects théoriques

Y. DEMARLY

Laboratoire d'Amélioration des Plantes,
Université de Paris-Sud, Bât. 360,
91405 Orsay

RÉSUMÉ

Un ensemble des mécanismes génétiques concernant la régulation cellulaire est présenté. La coordination de ces effets pour produire un type de développement cohérent détermine une chréode commandée par un programme génétique. Les lois essentielles du programme sont analysées ainsi que leurs conséquences sur la différenciation cellulaire, la morphogenèse, la compétition intercellulaire, la production de phénovariants et la vigueur hybride.

I. — LES DIVERSES ÉTAPES DU PROCESSUS DE LA RÉGULATION

Chez les organismes pluricellulaires, le modèle le plus cohérent qui puisse actuellement être proposé pour la régulation génétique comprend encore un certain nombre de phases hypothétiques ou mal précisées.

Les données présentées dans cet article résultent à la fois : de réflexions personnelles à partir des travaux du Laboratoire d'Amélioration des Plantes d'Orsay sur les interactions nucléo-cytoplasmiques, sur la division et la différenciation de cellules cultivées *in vitro* et sur l'hétérosis cellulaire, d'analyses de nombreuses publications sur la régulation génétique, notamment celles de McClintock (1956, 1965), Jacob

et MONOD (1961), WALLACE (1963), RENDELL (1967), BRITTEN (1969), GURDON (1969), SOLLER (1973), ainsi que des conceptions de THOM et de PRIGOGINE sur la thermodynamique, la stabilité structurelle et la morphogenèse.

A. — *Vue d'ensemble*

Le processus de régulation comprend un certain nombre de phases essentielles que nous définirons brièvement de la manière suivante avant de les analyser d'une manière détaillée (voir B, C, D, E) (1).

— la situation cytoplasmique : réunion dans le cytoplasme d'un certain nombre de signaux d'origine et de nature différentes ;

— la situation épigénique : superposition dans le noyau de signaux nucléaires corrélés à la situation cytoplasmique et des signaux propres au noyau, le tout se traduisant par des structures protéiques ;

— un ensemble sensoriel : des unités gènes sensoriels-gènes intégrateurs produisant un ensemble d'ARN activateurs qui s'exprimera sous forme de protéines acides spécifiques ;

— des batteries d'unités géniques productrices, comprenant des sites récepteurs et des sites structuraux.

Nous passerons successivement en revue ces diverses phases (fig. 1).

B. — *La situation cytoplasmique*

Nous devons considérer le cytoplasme comme un complexe de dynamiques mobiles. En effet, chaque protéine, chaque métabolite, chaque caractéristique physico-chimique (pression osmotique, pH, viscosité, ...) du cytoplasme est en voie de déformation constante, ces déformations pouvant présenter une périodicité plus ou moins régulière (cycles nycthéméraux de certaines synthèses enzymatiques par exemple).

La situation cytoplasmique intégrant tout cet ensemble est équivalente à une résultante de complexes cinétiques vibratoires qui peuvent présenter des périodicités, des résonances et une stabilité statistique. Sur le plan génétique, les paramètres décrivant les caractéristiques d'un état instantané (c'est-à-dire de la situation, au sens topologique) de cet ensemble doivent comprendre les effets principaux cumulés dans ce cytoplasme :

— des signaux émis par le milieu extérieur, perçus par l'individu et transmis par les complexes de corrélation interne de la plante (circuits hormonaux, passages de cellule à cellule) ;

— des signaux venus de processus voisins qui caractérisent les corrélations cellulaires à l'intérieur d'un organe ainsi que les effets de reconnaissance et de positionnement cellulaire ;

— des signaux génétiquement antoprogrammés, comprenant, en particulier, les effets de feed-back réprimant certaines synthèses par accumulation de métabolites et les productions de mRNA induisant séquentiellement d'autres synthèses. Nous inclurons dans ce groupe les signaux issus d'organites cytoplasmiques doués d'information.

(1) Certains autres termes utilisés dans cet article ont été définis précédemment (DEMARLY, 1975).

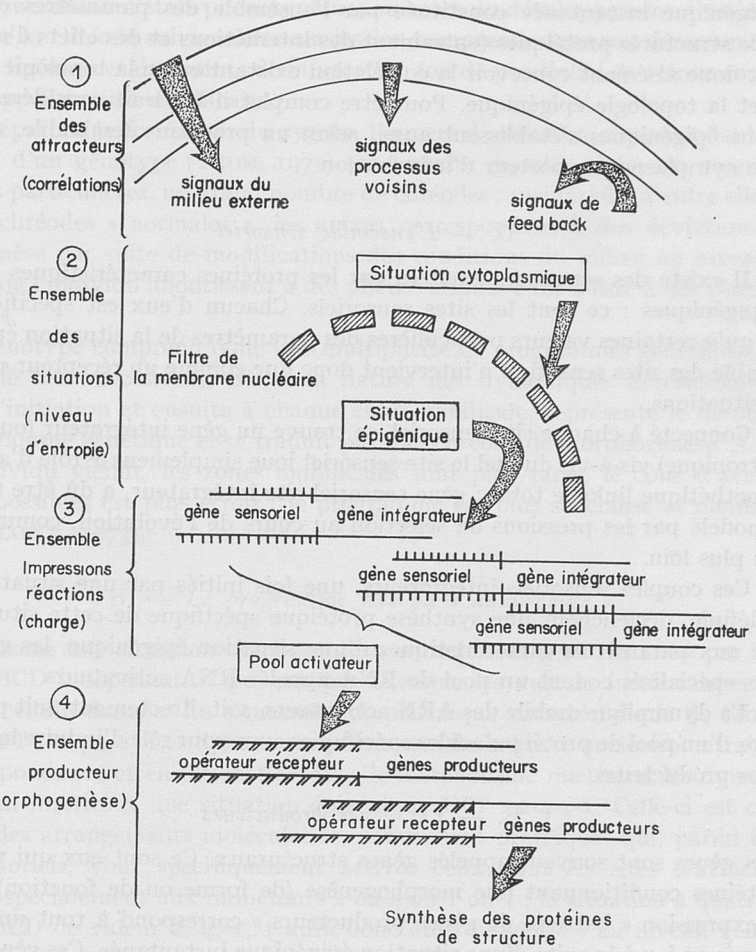


FIG. 1. — *Schéma de régulation cellulaire*

C. — *La situation épigénique* (fig. 1)

La situation épigénique est au noyau ce que la situation cytoplasmique est au cytoplasme, mais bien que le milieu nucléaire comporte sa propre composition biochimique, il n'est pas indépendant de la situation cytoplasmique. En effet, la membrane nucléaire joue un rôle de filtre vivant ; il s'établit donc, de part et d'autre de cette membrane, des phénomènes enzymatiques et des échanges liés à la taille des molécules, aux pressions osmotiques, aux potentiels de membrane, aux potentiels de jonctions entre ions. Par ailleurs, la dimension des pores entraîne des phénomènes de surface (niveau énergétique minimal des ions lié à leur forme la plus condensée). Dans le cas de fortes charges ioniques, le passage au travers des pores ouverts de la membrane nucléaire peut donner lieu à des phénomènes de turbulence qui ajoutent leur dynamique oscillatoire.

Tous ces phénomènes physico-chimiques déterminent dans le noyau une situa-

tion épigénique instantanée constituée par l'ensemble des paramètres caractéristiques de structures protéiques (entraînant des interactions et des effets d'allostérie). On peut donc aisément concevoir la corrélation existant entre la topologie cytoplasmique et la topologie épigénique. Pour être complet il faudrait considérer que des situations épigéniques s'établissent aussi, selon un processus semblable, dans tout organite cytoplasmique porteur d'information.

D. — *L'ensemble sensoriel*

1) Il existe des séquences excitées par les protéines caractéristiques des situations épigéniques : ce sont les sites sensoriels. Chacun d'eux est spécifique et ne répond qu'à certaines valeurs particulières des paramètres de la situation épigénique. L'ensemble des sites sensoriels n'intervient donc que comme un récepteur « palpeur » de ces situations.

2) Connecté à chaque site sensoriel, se trouve un gène intégrateur (ou une série polycistronique) vis-à-vis duquel le site sensoriel joue simplement le rôle d'activateur. Cet hypothétique linkage total : gène sensoriel-site intégrateur, a dû être très fortement modelé par les pressions de sélection au cours de l'évolution, comme nous le verrons plus loin.

3) Ces couples sensoriels-intégrateurs, une fois initiés par une situation épigénique définie, déclenchent une synthèse protéique spécifique de cette situation. En réponse aux paramètres caractéristiques d'une situation épigénique, les gènes intégrateurs spécialisés codent un pool de RNA appelés RNA activateurs.

4) La dynamique mobile des ARN activateurs, soit directement, soit par l'intermédiaire d'un pool de protéines acides spécifiques aura pour rôle d'induire les batteries de gènes producteurs.

E. — *Les gènes producteurs*

Ces gènes sont souvent appelés gènes structuraux. Ce sont eux qui produiront les protéines conditionnant une morphogenèse (de forme ou de fonction).

L'expression « batterie de gènes producteurs » correspond à tout un ensemble de loci mis en jeu à la suite d'une situation épigénique instantanée. Ces gènes producteurs comprennent d'ailleurs le linkage d'un site récepteur complexe : opérateur-promoteur (éventuellement répéteur) et des codes structuraux eux-mêmes.

Dans la régulation répressive, ces gènes ne sont généralement pas activés : leur lecture serait bloquée par une structure basique (histones) non spécialisée. Seule la présence, dans le pool activateur, des protéines acides spécifiques de la réponse à l'ensemble des signaux perçus, peut activer les sites opérateurs et promoteurs donnant lieu à la lecture des codes des cistrons producteurs.

II. — LA NOTION DE PROGRAMME GÉNÉTIQUE

A. — *Ouvert d'initiation et chréodes*

Le déroulement d'une morphogenèse « normale » est sous la dépendance de l'information héréditaire et des effets d'un milieu « normal ». Ce sont les champs d'attracteurs, conditionnés par les dynamiques mobiles et les dynamiques filtrantes, qui déter-

minent la succession d'états phénotypiques au cours du développement d'un individu, c'est-à-dire la chréode suivie. Cette succession comprend, dans son déroulement, des séquences linéaires et des points de bifurcation (ou de possibilité de retour en arrière) que l'on appelle zones ombilicales.

Au départ, à la formation du zygote, l'ouvert d'initiation correspondant au déploiement d'un génotype (THOM, 1972) peut rendre possible, dans un ensemble de conditions particulières, un grand nombre de chréodes : une famille d'entre elles constitue les chréodes « normales », les autres correspondant à des déviations de la morphogenèse par suite de modifications des conditions du milieu au niveau de la cellule ou de l'individu aboutissent à des phénovariants c'est-à-dire à des phénotypes inhabituels.

Un génotype comprend donc une multiplicité de programmes génétiques potentiels. L'une des successions, liée à la nature des dynamiques déterminantes dès l'ouvert d'initiation et ensuite à chaque zone ombilicale, représente le déroulement d'un programme génétique et se traduit par une chréode de morphogenèse. A mesure qu'un individu vieillit, les zones ombilicales sont plus rares, le cône d'avenir des chréodes possibles est plus étroit : le programme est plus spécialisé et moins réversible (DEMARLY, 1973).

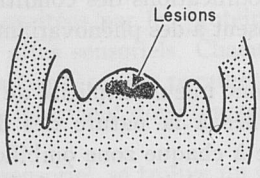
B. — *Le programme fixe ou « auto-régulé »*

Supposons une situation cytoplasmique caractérisée à un instant t par 4 paramètres ABCD indépendants qui ont par exemple les valeurs instantanées 2-4-1-1 pour une cellule donnée. La situation cytoplasmique caractéristique de l'instant t s'écrira CYT : 2-4-1-1. Les dynamiques filtrantes de la paroi nucléaire entraîneront, par correspondance et en interaction avec le métabolisme nucléaire, les dynamiques mobiles qui inscriront une situation épigénique EPI : 2-4-1-1. Celle-ci est caractérisée par des arrangements moléculaires, notamment protéiques qui, parmi tous les gènes sensoriels, vont spécifiquement activer ceux dont les sites d'attachement réagissent spécialement aux inducteurs 2 ou 4 ou 1 ou 1 : la situation à quatre paramètres ABCD de valeur 2, 4, 1, 1 aura donc été « ressentie » au niveau génétique. L'ensemble polycistronique intégrateur, correspondant à chaque site sensoriel excité, est activé, et produit de ce fait un pool d'acides ribonucléiques activateurs, caractéristique de l'état épigénique inscrit. On a ici une liaison « stimulus réaction » qui est un véritable réflexe génétique tout à fait analogue, dans son principe, à l'arc réflexe nerveux. Ceci met en évidence l'importance adaptative du couplage entre l'induction sensorielle et l'activation enzymatique correspondante. Ce pool de RNA produit par les gènes intégrateurs n'agit vraisemblablement pas directement mais code pour des protéines acides correspondantes. Ces molécules protéiques constituent la structure d'activation caractéristique de l'instant t, ACT : 2-4-1-1.

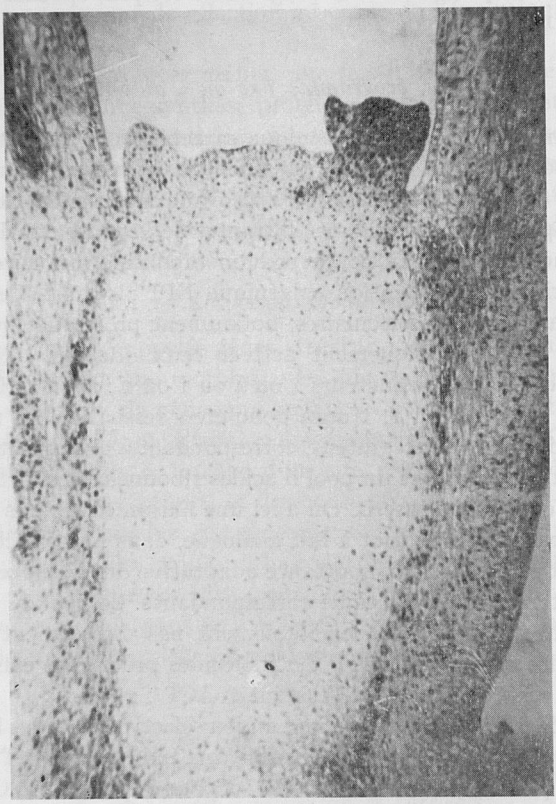
La présence de ce pool activateur met en jeu sélectivement des batteries de gènes producteurs dont le site récepteur est sensible aux inducteurs ACT : 2 pour le paramètre A, ACT : 4 pour le paramètre B, ACT : 1 pour le paramètre C, ACT : 1 pour le paramètre D. La dérépression d'un, ou de plusieurs gènes est donc engagée, les m RNA sont synthétisés sous l'effet des transcriptases, l'information génétique structurale est transportée au niveau des ribosomes cytoplasmiques où s'effectuent les synthèses protéiques (PRO : 2-4-1 dans l'exemple choisi). La présentation rapide de cette

dernière phase ne doit pas faire perdre de vue sa complexité (phénomènes de compétition, d'amplification, etc.).

Cette morphogenèse biochimique modifie évidemment la valeur (et parfois la nature et le nombre des paramètres) de la situation cytoplasmique de l'instant t. Au temps $t + 1$ cette nouvelle situation s'inscrira topologiquement : CYT : 2-5-1-1-2 par exemple. Le mécanisme précédemment décrit recommencera. Dans l'ensemble des gènes producteurs, ceux qui sont induits à la fois par la valeur 2 pour le para-



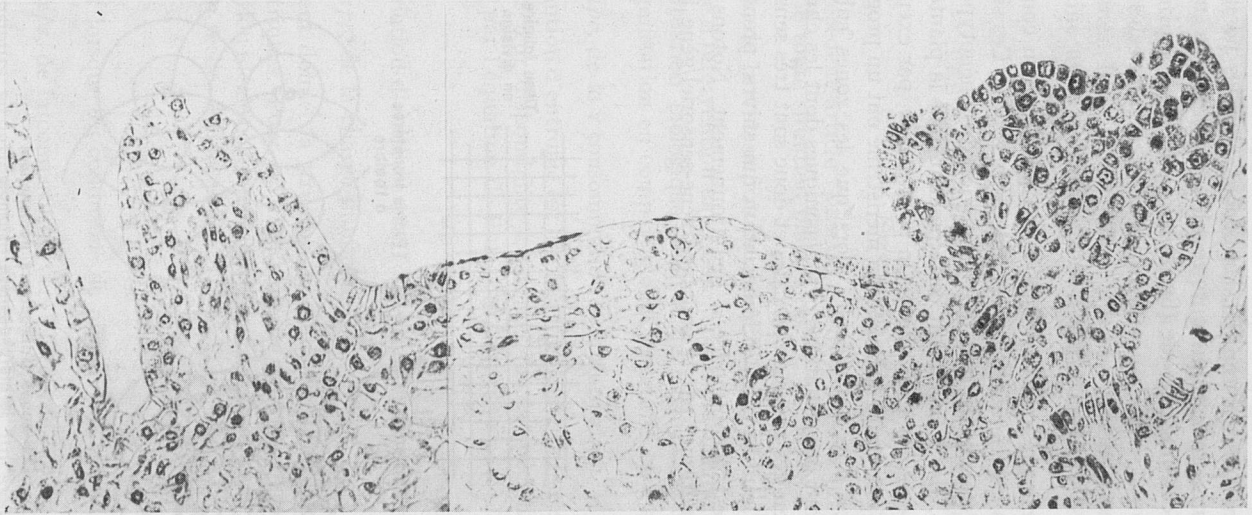
Méristème d'œillet irradiation de 3 000 rads en 3 minutes



Formation d'un méristème de remplacement 12 jours après l'irradiation (× 60)
Remarquer la stricte conservation du programme « apex »

(Photos Pereau-Leroy)

Fig. 2. — *Le programme du méristème*



Même apex (× 215)

FIG. 2. — (Suite).

mètre A, la valeur 1 pour le paramètre C, la valeur 1 pour le paramètre D continueront à produire. Par feed-back, la synthèse ACT : 4 pour le paramètre B sera réprimée alors qu'un nouveau gène sensible à ACT : 5 pour B sera activé. Par ailleurs un nouveau paramètre E entrera en jeu. On conçoit ainsi les possibilités du déroulement d'un programme génétique auto-régulé entraînant la morphogenèse du phénotype selon une certaine chréode (fig. 2).

C. — *La morphogenèse accommodée*

Dans le mécanisme présenté ci-dessus, il n'a pas été tenu compte des signaux produits par les effets extérieurs et par les processus voisins. Ces signaux jouent un rôle évident dans la détermination de la construction des phénotypes et dans l'organisation des fonctions. Il y a cependant certainement dans la plante des zones cellulaires plus ou moins sensibles à ces effets. On peut penser, par exemple, que la zone de division active et l'extrémité apicale d'un méristème ont un programme essentiellement « fixe » c'est-à-dire auto-régulé, alors que les zones subapicales, ou les bourgeons d'attente, ont des situations cytoplasmiques dont les chréodes sont provisoirement stabilisées en des zones ombilicales et donc sont très sensibles aux attracteurs déterminés par le milieu. La différenciation qui suivra, prenant fortement en compte ces signaux est accommodée à l'environnement. Notons qu'ici encore le mécanisme réflexe génétique, par le couplage gène-sensoriel/gène intégrateur, a un rôle essentiel (fig. 3).

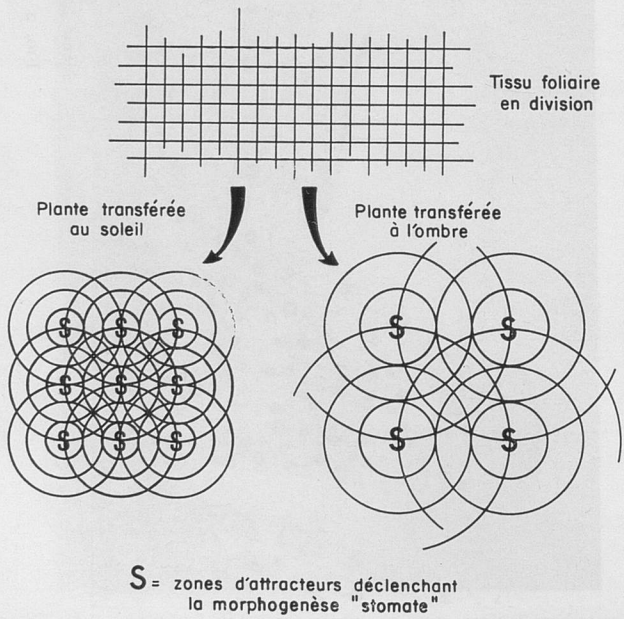


Fig. 3. — *Deux intensités d'interférences entre dynamiques dans l'orientation de la morphogenèse « stomates »* (cf. travaux de Schoch P. G.). Chez *Vigna sinensis*, le potentiel de production de stomates d'un tissu foliaire en division est modulé par les conditions de rayonnement au cours des quelques jours qui précèdent le déplissement de la feuille.

D. — *Les tissus ou organes*

Une même cellule-ancêtre au cours du passage à travers la zone des divisions intenses a produit une descendance qui constitue un ensemble cellulaire. Chaque unité de cet ensemble a reçu des situations cytoplasmiques apparentées, donc s'oriente de manière identique pour le programme auto-régulé. Par ailleurs, deux cellules proches reçoivent des signaux assez semblables, venant de l'environnement et venant des cellules voisines. Il est donc normal que ces cellules construisent un ensemble ayant une certaine unité anatomique ou fonctionnelle c'est-à-dire un tissu ou un organe.

III. — LES LOIS BIODYNAMIQUES DU PROGRAMME

A. — *Exposé des principes*

Dans un précédent article (DEMARLY, 1975) ont été présentés les quatre principes généraux de toute situation biologique.

Premier Principe, de la « stratification » de l'hétérogénéité.

En l'absence d'intervention extérieure, l'entropie interne, ou mesure de l'hétérogénéité d'une situation biologique, tend à décroître au cours du temps. Ceci se traduit par l'organisation en compartiments structurés spécialisés.

Deuxième Principe, de la « consommation » d'information.

Cette diminution d'entropie est liée à la mise en jeu des ressources d'information. Celles-ci perdent leur disponibilité à mesure que la spécialisation s'organise. Ceci peut s'exprimer par l'équation de BRILLOUIN (1959) :

$$(\Delta S - \Delta I) > 0$$

où ΔS est la variation d'entropie et ΔI la variation du potentiel d'information.

Troisième Principe, de la charge minimale.

A un moment donné, la structure s_t d'une situation peut être décrite par des valeurs paramétriques. Pour un intervalle de temps suffisamment petit on peut définir une situation idéale correspondante, soit s_{it} cet idéotype. La charge instantanée I_t de la situation réelle, définie par :

$$I_t = \frac{s_t - s_{it}}{s_{it}},$$

tend à s'annuler lorsque les conditions de milieu sont constantes.

Quatrième Principe, de la compétition vers l'idéotype.

Lorsque plusieurs situations individuelles dans un système convergent à nn instant t vers l'idéotype, l'intensité du champ d'attraction est une fonction inverse de la charge. A partir de ce principe ont été exprimées les diverses modalités de la concurrence entre situations.

B. — *Application de ces principes au programme génétique*

Reprenons les signaux de diverses natures intégrés dans une situation cytoplasmique.

1. *Diminution de l'entropie.*

Sauf dans des conditions exceptionnelles, à mesure que le programme autorégulé se déroule, le cytoplasme des diverses cellules différencie de façon coordonnée sa forme et sa fonction. En liaison avec ceci, la nature des signaux, transmis en un point précis du végétal par l'environnement et les processus voisins, se spécialise au fur et à mesure de la morphogenèse. Ceci revient à dire que les divers paramètres caractérisant une situation cytoplasmique sont de plus en plus corrélés entre eux, c'est-à-dire liés par des relations structurales ou fonctionnelles.

Imaginons que la situation décrite dans l'exemple précédent CYT : 2-5-1-1-2 nécessitant, pour être topologiquement décrite, 5 types de paramètres importants ABCDE, corresponde à un état très différencié. Nous pouvons tenter de décrire l'évolution de la chréode ayant mené à cette situation. Nous prendrons comme codification la valeur 0 d'un paramètre pour exprimer le déploiement potentiel total du génotype ; c'est-à-dire que, pour les 5 paramètres ABCDE considérés, la situation cytoplasmique correspondant à l'ouvert d'initiation s'écrit CYT : 0-0-0-0-0.

Imaginons ensuite que le paramètre A caractérise les attracteurs entraînant une mitose, nous pourrions avoir une valeur 1 pour le déroulement « normal » de la mitose, une valeur 2 pour un déroulement accompagné d'un doublement chromosomique, une valeur 3 pour certaines aneuploïdies, etc. A un certain moment, la situation cytoplasmique CYT : 2-0-0-0-0 décrirait donc un cal non morphogène réalisant des mitoses au niveau tétraploïde. Le paramètre B peut correspondre à une certaine inégalité dans la répartition du matériel cytoplasmique entre les deux cellules filles formées à la suite d'une mitose (la valeur 0 étant l'équirépartition, la valeur 1 représentant la polarisation « normale » dans l'embryogenèse, les valeurs 3, 4 ou 5 diverses intensités de déviation dans les types de répartition). On verra donc apparaître dans la chréode parcourue, la situation cytoplasmique CYT : 2-4-0-0-0 décrivant la valeur des paramètres ABCDE pour certaines cellules. Il est possible alors que le seul cône d'avenir viable, en ce qui concerne les paramètres C et D, corresponde à une séquence sans zone ombilicale qui mène à CYT : 2-4-1-1. Toute autre formule étant soit léthale, soit si peu compétitive qu'elle n'a, dans un certain contexte d'attracteurs, aucune chance de survie. Les paramètres A = 2 ; B = 4 ; C = 1 ; D = 1, apparaissent alors comme corrélés entre eux et, topologiquement, l'entropie des états cytoplasmiques se stratifie.

Une chréode apparaît donc comme un parcours de développement défini par des paramètres liés au cours du temps par un ensemble de corrélations multiples. Les zones ombilicales correspondent à des points de la trajectoire où les corrélations sont moins strictes et où d'autres relations peuvent s'installer [1]. A mesure que le cytoplasme évolue, il faudra de plus en plus de paramètres corrélés pour décrire l'essentiel d'une situation. Concrètement, tel cytoplasme se sera orienté vers l'accumulation

[1] Il est donc tout à fait rationnel de définir et de mesurer la « mémoire » cellulaire par le coefficient de corrélation entre situations cellulaires (DEMARLY, 1973).

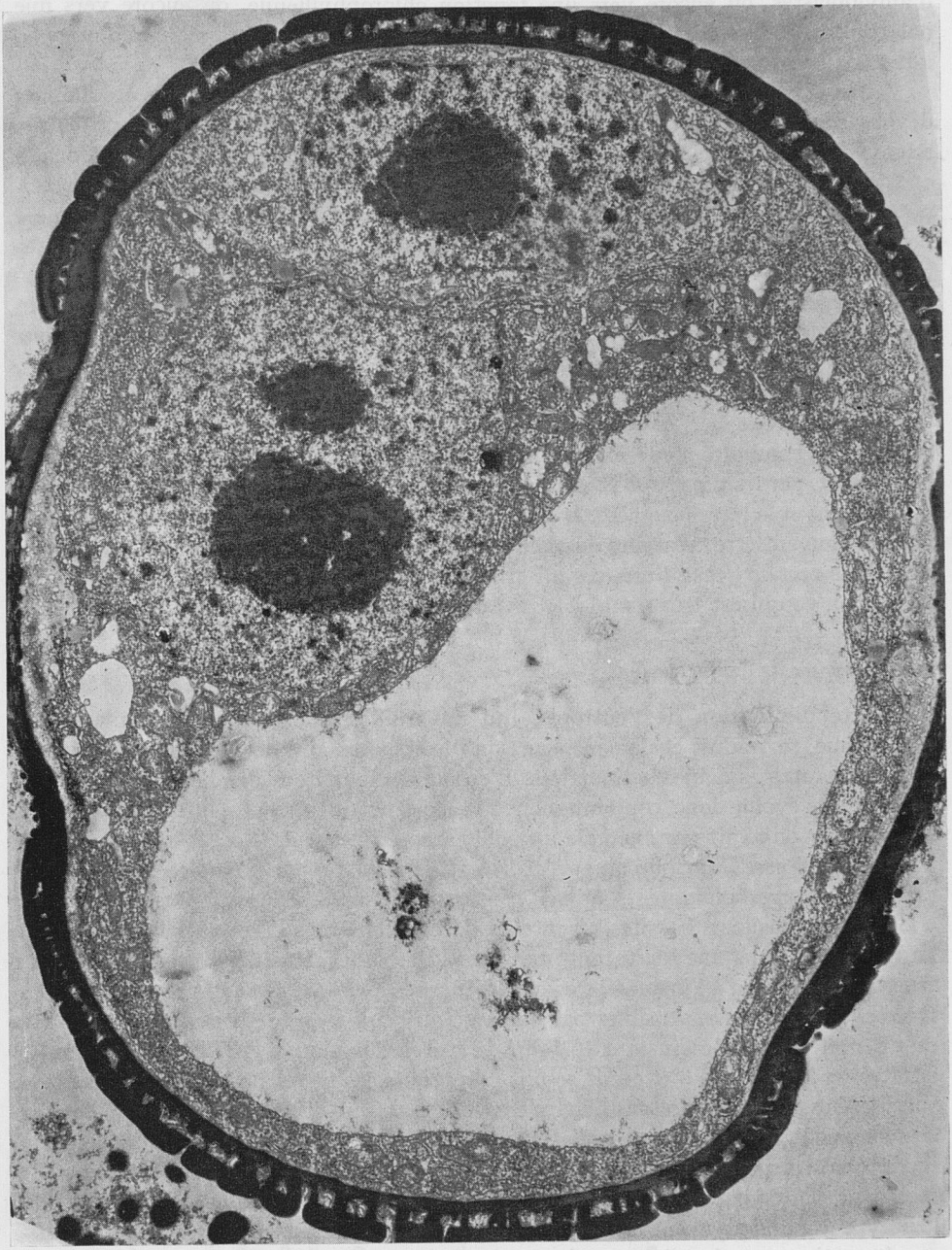


FIG. 4. — *Stratification cytoplasmique de la microspore de tabac*
(Photo B. VAZART)

La cellule reproductrice en haut est caractérisée par une faible épaisseur de cytoplasme et la rareté des organites. La cellule végétative est en voie de déshydratation (grande vacuole, abondance de ribosomes, de plastes, d'amas lipidiques, de mitochondries).

d'amyloplastes, ou encore vers une fonction chlorophyllienne, ou encore vers une polarisation de sa structure et de ses fonctions : ergastoplasme granulaire en un pôle, mitochondries, vacuolisation, réserves... en un autre (fig. 4).

A mesure que le végétal vieillira et se rapprochera de la sénescence, ces liaisons deviendront plus strictes pour aller, par exemple, jusqu'à des formes de cytoplasme sclérenchymateux ou du type de la cellule végétative du pollen. Si nous gardons la codification d'écriture paramétrique précédente, où o représenterait un état « totipotent » pour le déploiement génétique d'un paramètre, et 1 la morphogenèse normale, les exemples de cellules sclérenchymateuses, de même que de cellules végétatives du pollen seraient notés CYT : 1-1-1-1-1- ..., la nature et le nombre des paramètres descriptifs étant différents dans les deux cas. La cellule végétative du grain de pollen de maïs stérile pourrait s'inscrire par exemple, CYT : 1-1-1-1-2-2-2 pour une stérilité génique, CYT : 1-1-1-1-1-3 pour une stérilité liée au cytoplasme Texas, CYT : 1-1-1-1-1-4 pour une stérilité liée au cytoplasme USDA etc.

On peut donc dire, qu'avec le vieillissement, les situations perdent leur entropie. Sur leurs dynamiques modelées à la fois, par les signaux autoprogrammés, par l'environnement, par les processus voisins, s'installent des corrélations multiples canalisant les chréodes et la morphogenèse. D'ailleurs, les échanges de signaux avec les processus voisins peuvent être créateurs de phénomènes de résonance montrant bien la nécessité, dans certains cas, d'une organisation pluricellulaire (ou d'un conditionnement du milieu, ce qui est très semblable) avant l'apparition d'une morphogenèse.

2. *Répression de l'information.*

Cette diminution de l'entropie, qui apparaît très clairement au niveau du cytoplasme, se traduit également, sans qu'il soit nécessaire de le montrer, jusqu'au pool des protéines acides activatrices. L'ensemble activateur des batteries de gènes producteurs évolue donc, conjointement à la structuration du cytoplasme. Alors qu'au stade jeune on avait par exemple un pool caractérisé par ACT : 2-4-0-0-0, au stade adulte ce pool sera beaucoup plus spécialisé ACT : 2-4-1-1-0 par exemple. Les molécules protéiques correspondantes seraient vraisemblablement beaucoup plus complexées.

Si l'on considère les sites récepteurs de ces situations d'activation, il apparaît au cours du temps une limitation progressive des séries de gènes susceptibles d'être transcrits. Alors qu'à l'instant t étaient déréprimés les gènes liés à des récepteurs relativement polyvalents, sensibles par exemple au stade zygote au seul effet ACT : 2, ou au stade jeune, de l'instant $t + k$, à la corrélation simple ACT : 2-4, aux stades adultes de l'instant $t + n$, seuls seront déréprimés les gènes possédant le récepteur spécialisé de la corrélation plus complexe ACT : 2-4-1-1. Tout se passe donc, comme si avec l'accroissement des corrélations paramétriques, l'ensemble de l'information ne devenait disponible qu'à des activateurs très spécifiques (fig. 5 et 6). Le modèle met donc clairement en évidence cette perte de totipotence dans le déploiement du génotype à mesure que le cytoplasme vieillit. Le cône d'avenir est plus restreint puisque les activateurs des gènes producteurs sont plus structurés. L'ensemble du génotype est davantage réprimé et seules des protéines plus spécialisées sont génétiquement codées. On dit que la « compétence » cellulaire est plus étroite. L'état sénescent correspond ainsi à un blocage quasi complet de toute synthèse.

La corrélation entre les paramètres cytoplasmiques, qui est l'un des éléments

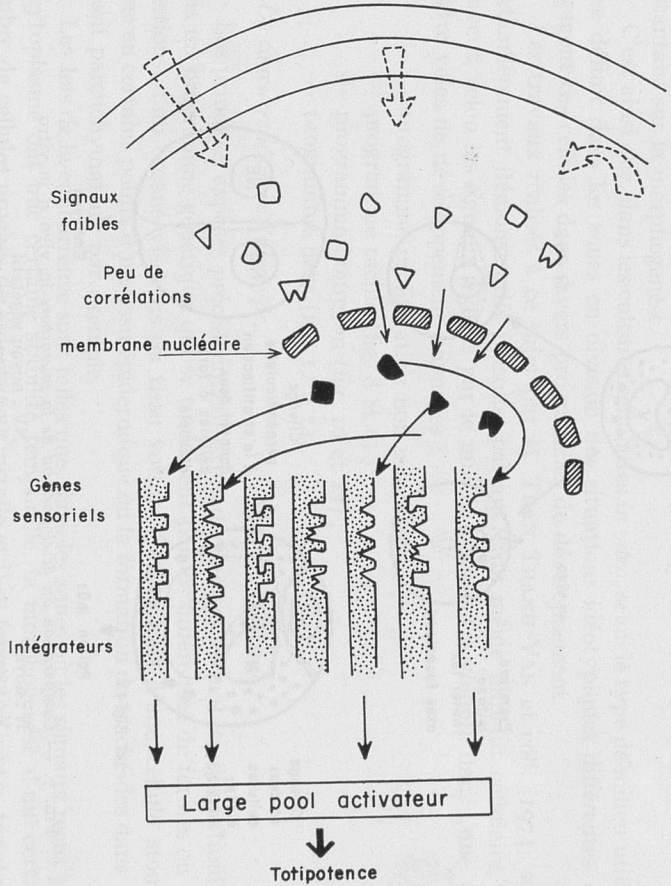


FIG. 5. — *Régulation dans une cellule jeune*
(situation épigénique peu spécialisée : nombreux sites sensoriels activés)

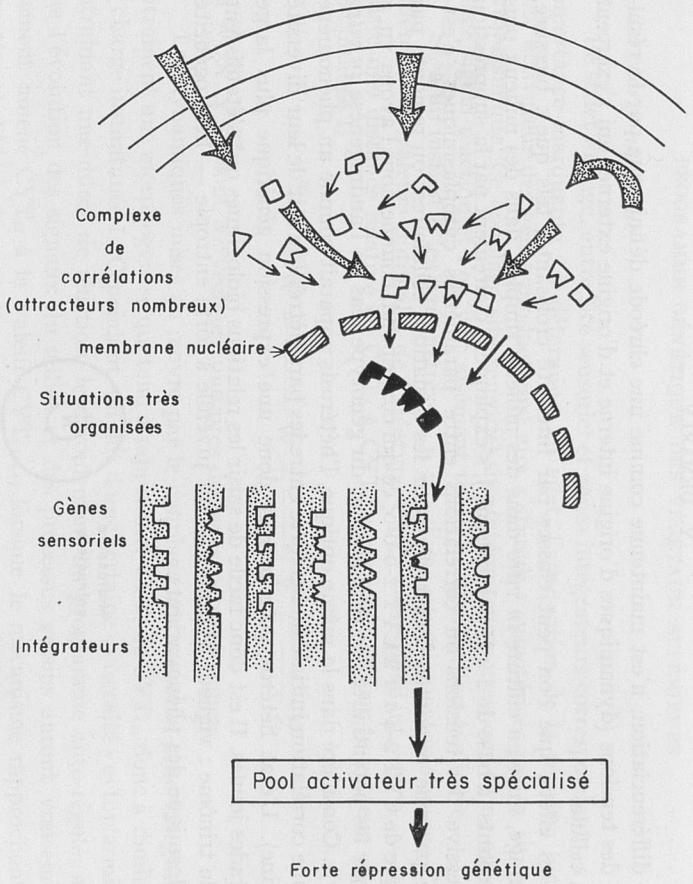


FIG. 6. — *Régulation dans une cellule très différenciée*
(faible nombre de sites sensoriels réceptifs aux complexes de la situation épigénique)

de la différenciation, n'est maintenue comme une chréode définie que par la résultante des tensions (dynamiques d'origine interne et d'origine externe) qui s'exercent sur la cellule.

Des effets, que l'on peut classer par intensité croissante, tels que : blessure, bouturage, mise en culture *in vitro* dans des milieux simples, dans des milieux plus perturbants (à base de 2-4 D par exemple), s'expliquent clairement par la suppression progressive des tensions ou corrélations entre paramètres cytoplasmiques, c'est-à-dire par une remontée d'entropie pour les situations cellulaires ; on remonte par exemple de CYT 2-4-1-1 à CYT 2-0-0-0, ce qui correspond, comme nous l'avons vu, à réélargir les potentialités de déploiement du génotype (cas de l'androgenèse *in vitro* (fig. 7)). Considéré dans la même optique, l'hétérosis apparaît comme un phénomène lié à une corrélation initiale moins forte entre les paramètres (du fait de leur diversité d'origine). L'état hétérozygote permet donc une expression génétique plus large aux stades jeunes. Il est donc facile de saisir les relations biologiques qui s'établissent dans le trinôme : vigueur hybride — état juvénile à forte entropie — hétérogénéité cytoplasmique des phénovariants.

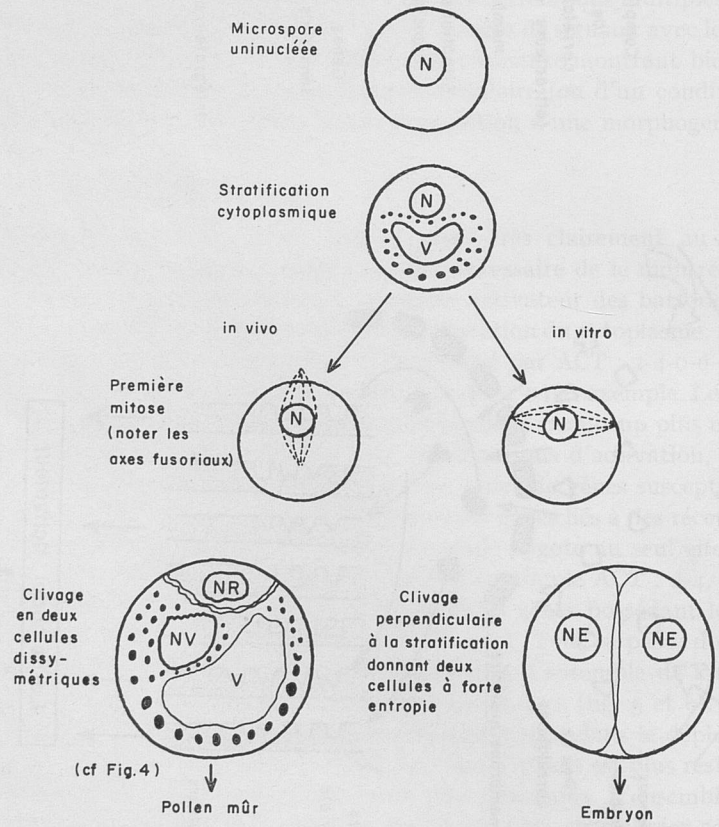


FIG. 7. — *Comparaison du développement de la microspore* in vivo *et* in vitro

N : noyau
V : vacuole
NR : noyau reproducteur
NV : noyau végétatif
NE : noyau embryonnaire

3. *La charge minimale.*

Le strict linkage, entre site sensoriel et gènes intégrateurs correspondants, a une importance marquante : il détermine, en effet, l'adéquation de la réponse (par le pool activateur des gènes producteurs) aux « stimuli » caractérisés par la situation cytoplasmique. Ce couplage site sensoriel-site intégrateur correspond donc au couplage signal-réaction et l'on voit aisément toute sa signification évolutive.

Si, à un instant t, les paramètres w, x, y, z d'une situation cytoplasmique CYT_t diffèrent des valeurs optimales de l'idéotype CYT_{it} correspondant, w_i, x_i, y_i, z_i, il existe une distance relative de CYT_t à CYT_{it} qui s'exprime par le vecteur charge instantanée I_t :

$$\frac{w - w_i}{w_i}\vec{W} + \frac{x - x_i}{x_i}\vec{W} + \frac{y - y_i}{y_i}\vec{Y} + \frac{z - z_i}{z_i}\vec{Z}$$

où $\vec{W}$, $\vec{X}$, $\vec{Y}$, $\vec{Z}$ sont les vecteurs unitaires des axes paramétriques.

Les dynamiques mises en œuvre par le couplage site sensoriel-gène intégrateur entraînent une morphogenèse qui tend à rapprocher CYT_t de CYT_{it}, donc à diminuer la charge instantanée I_t. Cependant, du fait d'une certaine « viscosité » cytoplasmique entraînant une durée de réaction, le déroulement du programme auto-régulé, ainsi que l'évolution des signaux du milieu et des processus voisins auront vraisemblablement amené CYT_{it} à la valeur $CYT_{i(t+1)}$ lorsque le mécanisme rapprochant la situation de l'idéotype sera mis en œuvre. Le couple sensoriel-intégrateur a donc été sélectionné pour maximiser la valeur adaptative en corrigeant les situations pour suivre l'idéotype au plus près : l'idéotype exerce donc un effet de « monitoring » instantané sur la morphogenèse.

C'est ainsi que, dans les cultures cellulaires *in vitro*, selon le type de milieu utilisé, il se définit dans les zones en division des situations idéotypiques différentes qui engagent ces cellules dans divers programmes de développement.

Les travaux réalisés à ce sujet par M. Tran Thanh Van et coll. (1974) sont particulièrement démonstratifs puisque, partant d'un même implant cellulaire, ils peuvent, selon les signaux fournis par le milieu, l'engager à volonté dans l'une des quatre voies de développement suivantes :

— programme prolifération non morphogène ;
— programme racine (fig. 8 et 9) ;
— programme bourgeon (fig. 10 et 11) ;
— programme fleur (fig. 12 à 14).

4. *La concurrence vers l'idéotype.*

Les principes exposés précédemment expliqueraient assez mal les discontinuités dans un programme génétique qui se traduisent par les différences de formes ou de fonctions d'un organe vis-à-vis du tissu voisin ; l'apparition d'une cellule stomatique en certains points d'un tissu épidermique ou la formation de trachéides dans un massif parenchymateux par exemple.

Les lois de la concurrence sont telles que, dans les zones où les signaux reçus par le cytoplasme ont une certaine stabilité temporelle, la morphogenèse d'un certain nombre de cellules proches de l'idéotype s'installe et il se forme un centre tissulaire ayant une certaine homogénéité. Quant aux situations qui avaient initialement une

charge plus importante elles peuvent, s'il existe une stabilité des attracteurs, se trouver en position de plus en plus désavantagée. Deux types d'événements peuvent alors les concerner :

— ou elles sont éliminées par des groupes cellulaires plus compétitifs ;
— ou leurs valeurs paramétriques marginales leur permettent, au passage d'une zone ombilicale, d'être captées par un idéotype défini par d'autres corrélations. Elles sont alors soumises à d'autres attracteurs et s'engagent dans un programme génétique différent : il y a alors une discontinuité organique entre ce groupe cellulaire et le groupe initial.

Ainsi s'expliquent les limites de forme et les discontinuités d'expression du programme génétique dans les organes et les tissus (discontinuité entre zone médullaire et faisceaux libéro-ligneux par exemple).

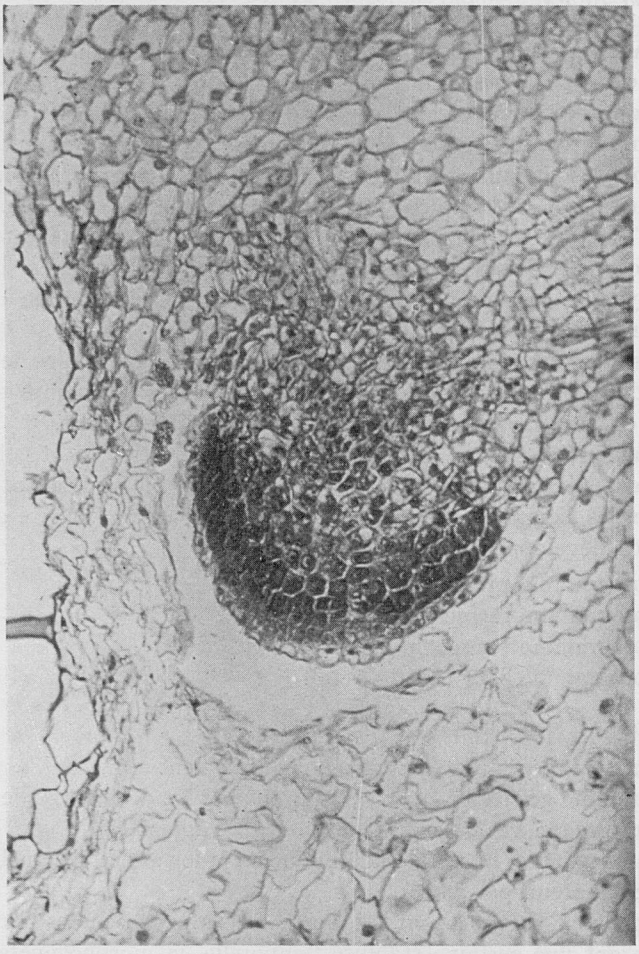


FIG. 8. — *Coupe d'un explant* (épiderme et sous-épiderme) *engagé sur le programme « racine » par culture* in vitro
(Photo M. TRAN THANH VAN et coll.)

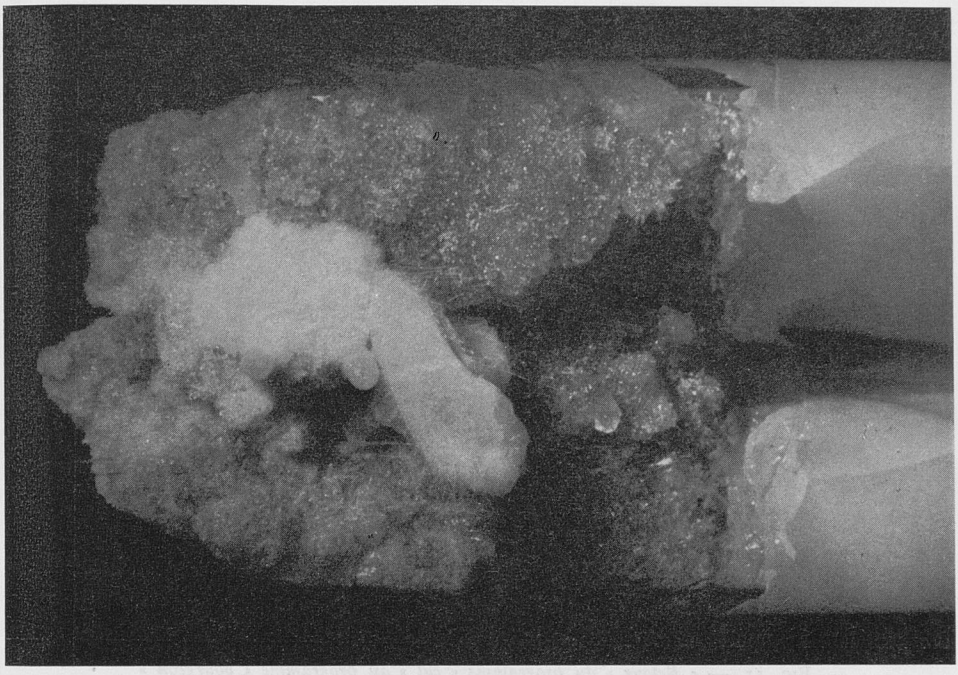


FIG. 9. — « *Retour* » *du programme* « *cal* » *au programme* « *racine* »

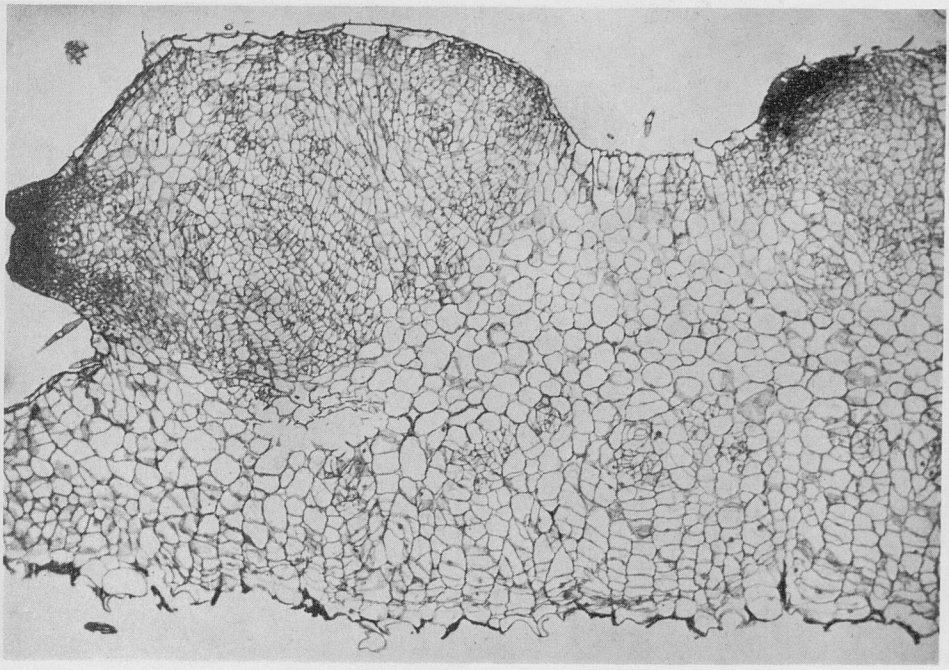


FIG. 10. — *Coupe d'un épiderme engagé sur le programme* « *bourgeon* » *par culture* in vitro

(Photos M. TRAN THANH VAN et coll.)

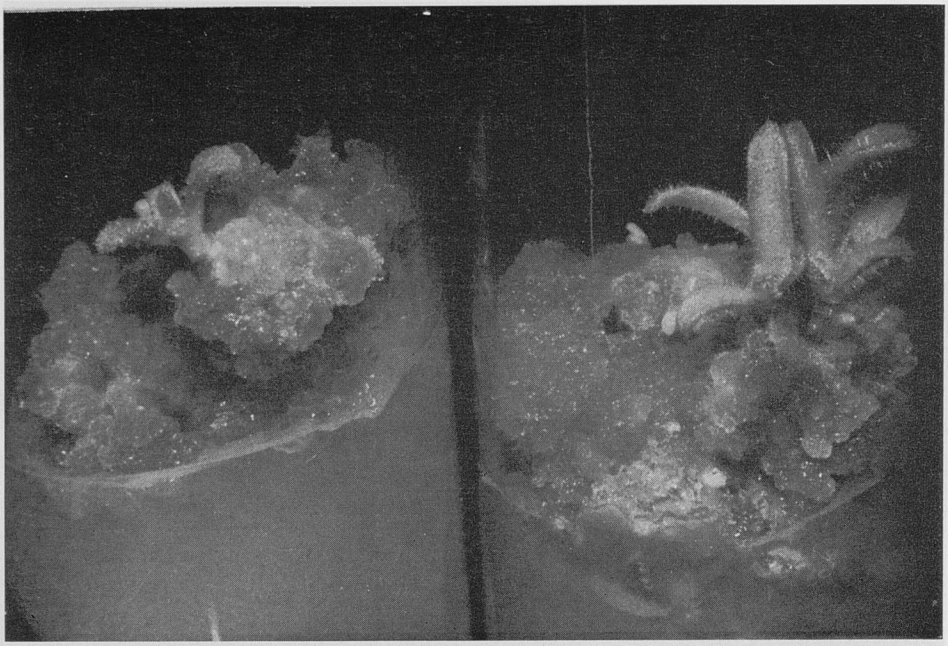


FIG. 11. — « *Retour* » *du programme* « *cal* » *au programme* « *bourgeon* »

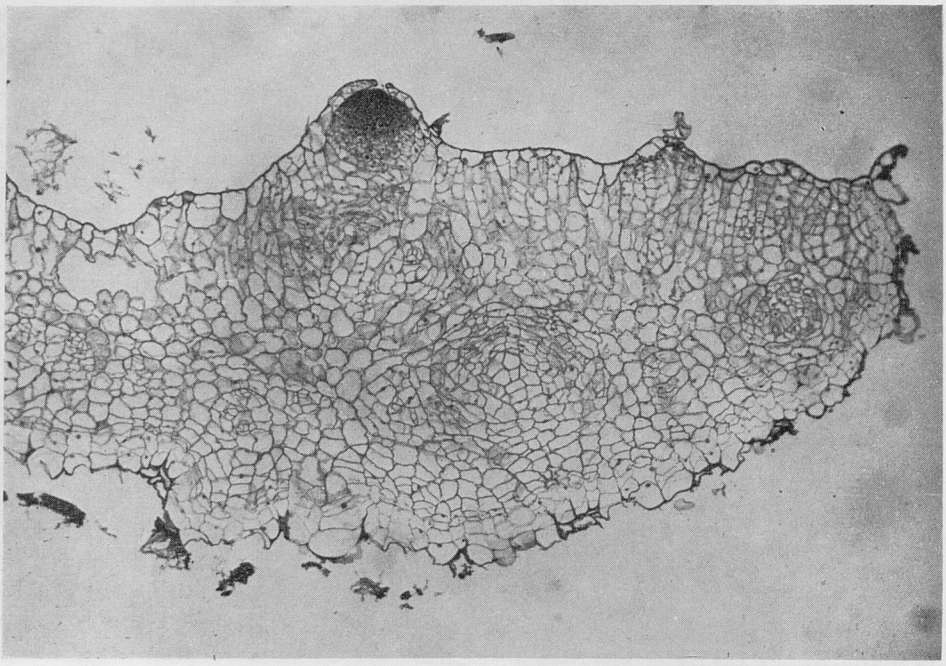


FIG. 12. — *Explant de tissus épidermique et sous-épidermique de tabac engagé dans le programme* « *floraison* » *lors d'une culture* in vitro

(Photos M. TRAN THANH VAN et coll.)

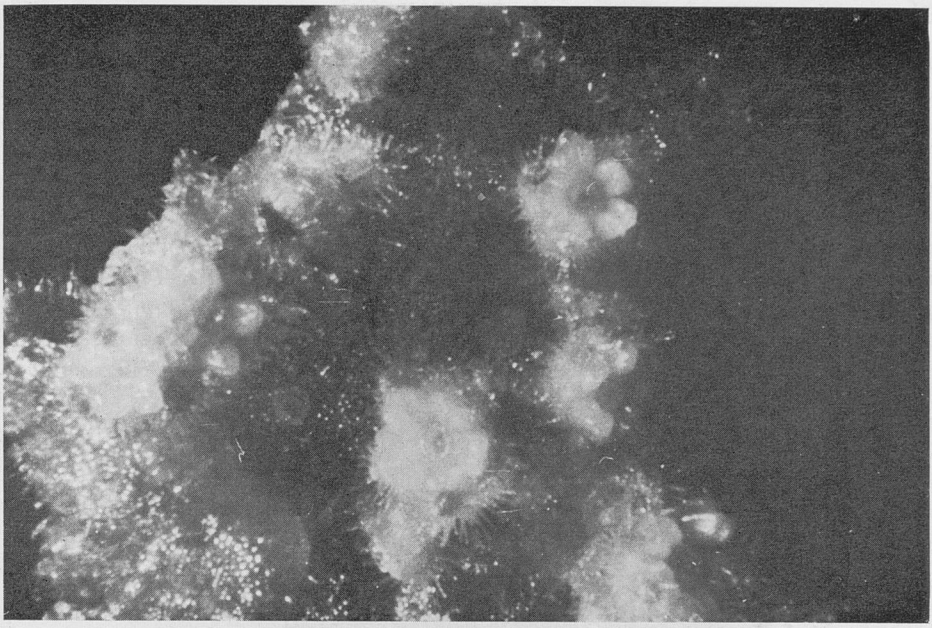


FIG. 13. — *Vue du même type d'explant qu'à la figure 12*
Remarquer la formation directe des ébauches florales sur l'épiderme (étamines)

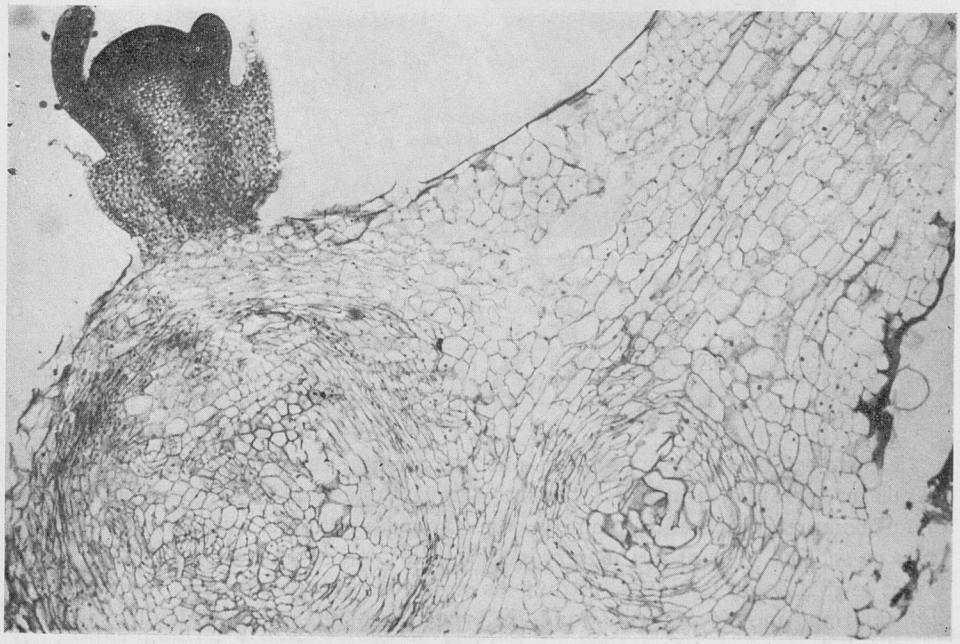


FIG. 14. — *Vues détaillées de l'ébauche florale* (noter les anthères) *obtenue directement par culture* in vitro *chez le Tabac. Programme « floraison »*
(Photos M. TRAN THANH VAN et coll.)

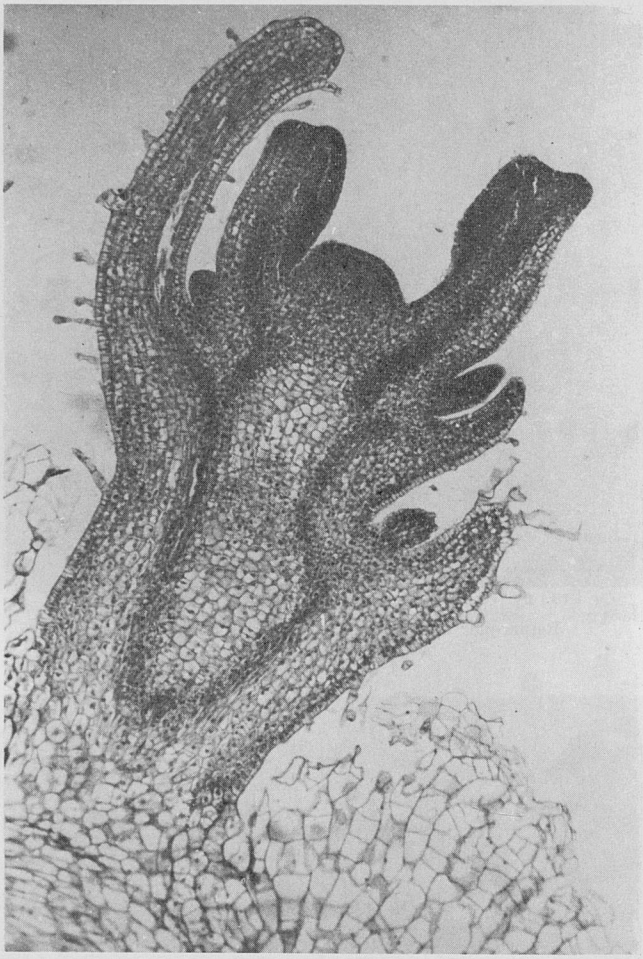


FIG. 14. — *Vues détaillées de l'ébauche florale* (noter les anthères) *obtenue directement par culture* in vitro *chez le Tabac. Programme « floraison »*
(Photos M. TRAN THANH VAN et coll.)

IV. — CONCLUSION

Les aspects développés ci-dessus ont été volontairement simplifiés. L'accent a été mis sur les rapports entre cytoplasme et noyau, mais une vue d'ensemble correcte devrait comprendre un autre panneau concernant les relations cytoplasme/organites. Dans ce schéma général, les membranes (qu'elles soient du noyau ou d'organites) jouent le rôle de dynamiques, filtrant les situations cytoplasmiques. Au niveau de l'information, une réponse génétique, du type stimulus/réaction, se traduit par une morphogenèse structurale (positionnement des mitoses, forme des cellules, stratifications dans le cytoplasme, modèle intracellulaire des populations d'organites par réplication différentielle de certains plastotypes) ou par une morphogenèse de fonc-

tions (productions enzymatiques nucléaires ou plasmiques, développement de chaînes métaboliques, régulations secondaires liées au déverrouillage simultané de mRNA séquestrés dans le cytoplasme ou liés à des compétitions au niveau des ribosomes...)

L'ensemble de la régulation cellulaire est donc beaucoup plus diversifié que ne le laisserait penser le modèle présenté. Néanmoins ce mécanisme est suffisamment général pour en donner une idée simplifiée mais exacte. Les théories et les principes proposés sont d'ailleurs étayés par un grand nombre d'expériences dont le thème unitaire était soit de modifier les signaux reçus par un cytoplasme, soit de modifier ce cytoplasme lui-même. De ces multiples résultats, obtenus pour la plupart en culture *in vitro*, s'est dégagée cette conception cybernétique du programme génétique et de la réalisation du phénotype (fig. 15).

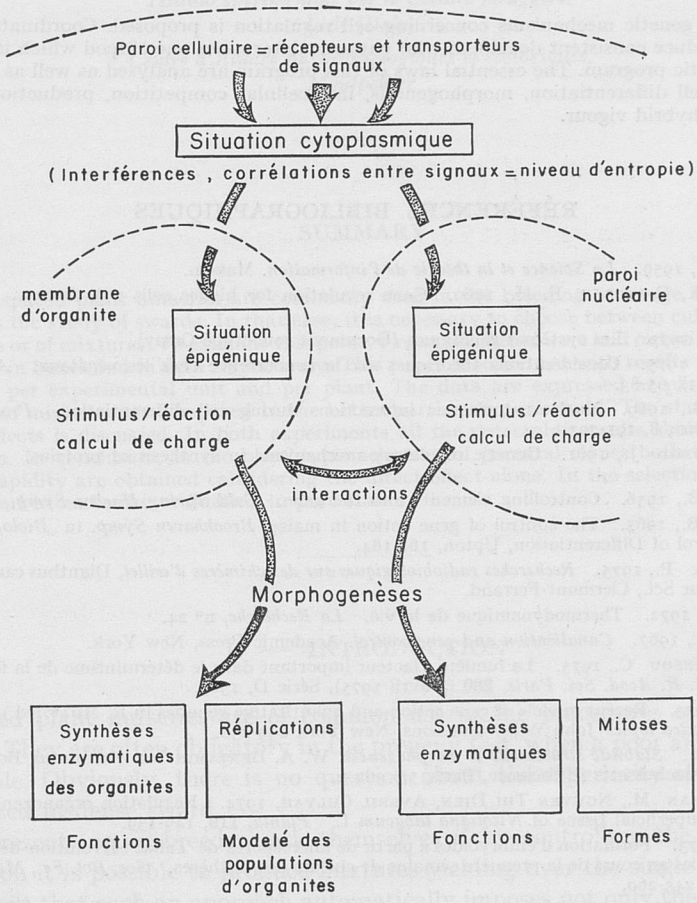


FIG. 15. — *Modèle de cybernétique cellulaire*

Dans d'autres articles seront développés des aspects expérimentaux présentant des modifications du programme génétique et leur relation avec l'hétérosis.

Reçu pour publication en juin 1975.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier tous ceux qui m'ont permis, par leurs résultats expérimentaux, par leurs illustrations et par leurs conseils, d'enrichir cet article.

SUMMARY

GENETIC PROGRAM IN HIGHER PLANTS. THEORETICAL ASPECTS

A set of genetic mechanisms concerning cell regulation is proposed. Coordination of these effects to produce consistent developmental patterns determines one chreod which is under control of a genetic program. The essential laws of this program are analysed as well as their consequences on cell differentiation, morphogenesis, intercellular competition, production of phenovariants and hybrid vigour.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Brillouin L., 1959. *La Science et la théorie de l'information.* Masson.

Britten R. J., Davidson E. H., 1969. Gene regulation for higher cells : A theory. *Science,* **165**, 349-357.

Demarly Y., 1973. Les systèmes génétiques (Document ronéotypé Orsay).

Demarly Y., 1975. Considérations théoriques sur la concurrence chez les végétaux. *Ann. Amélior. Plantes,* **25** (1), 65-83.

Gurdon J. B., 1969. Nucleo-cytoplasmic interactions during cell differentiation. *Proc. 12 Intern. Congr. Genetics,* **3**, 191-203.

Jacob F., Monod J., 1961. Genetic regulatory mechanisms in synthesis of proteins. *J. mol. Biol.,* **3**, 318-356.

McClintock B., 1956. Controlling elements and the gene. *Cold Spring Harbor Symp.,* **21**, 197-216.

McClintock B., 1965. The control of gene action in maize. *Brookhaven Symp.* in *Biology* nº 18. On genetic control of Differentiation, Upton, 162-184.

Pereau-Leroy P., 1975. *Recherches radiobiologiques sur des chimères d'œillet,* Dianthus caryophyllus *L.* Thèse Docteur Sci., Clermont-Ferrand.

Prigogine I., 1972. Thermodynamique de la vie. *La Recherche,* nº 24.

Rendel J. M., 1967. *Canalisation and gene control.* Academic Press, New York.

Schoch P., Zinsou C., 1975. La lumière : facteur important dans le déterminisme de la formation des stomates. *C. R. Acad. Sci. Paris,* **280** (7 avril 1975), Série D, 1563.

Soller M., 1973. Recent models of gene action and quantitative genetics in R. Moav (ed.) *Agricultural Genetics, Selected topics*-John Wiley and Sons, New York 239-250.

Thom R., 1972. *Stabilité structurelle et morphogenèse.* W. A. Benjamin Inc. Advanced Book-Program, Reading, Massachussetts (Ediscience, Paris, 5e) 362 p.

Tran Thanh Van M., Nguyen Thi Dien, Averil Chlyah, 1974. Regulation organogenesis in small explants of superficial tissue of *Nicotiana tabacum* L. *Planta,* **119**, 149-159.

Vazart B., 1973. Formation d'embryoïdes à partir de microspores de Tabac : Évolution de l'infrastructure des cellules au cours de la première semaine de culture des anthères. *Soc. Bot. Fr., Mémoires, Coll. Morphologie,* 243-260.

Waddington C. H., 1957. *The strategy of the genes.* Allen and Unwin. Londres, 262 p.

Wallace B., 1963. Genetic diversity, genetic uniformity and heterosis. *Canad. J. Genet. Cytol.,* **5**, 239-253.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (2), 139-155.

EFFECTS OF ASSOCIATION ON THE EVALUATION OF LUCERNE POPULATIONS (1)

P. ROTILI, L. ZANNONE and P. JACQUARD*

Istituto sperimentale per le Colture foraggere, Lodi (Italy)

* *Centre d'Études phytosociologiques et écologiques, Montpellier*

SUMMARY

While spaced plant nurseries are commonly used in the breeding of forage crops, another approach is the study of swards. In that case, it is necessary to choose between cultures of single populations or of mixtures. To examine this point, two experiments were laid out with populations of Lucerne in boxes and in field respectively. This paper is concerned with results for dry matter production per experimental unit and per plant. The data are expressed as plastic responses. The yields of mixtures are compared to the better partner in pure stand. The statistical significance of effects is discussed. In both experiments all the detectable results show situations of competition. In conclusion, in the phenotypic selection of parental clones both maximum efficacy and rapidity are obtained considering the direct effect alone. In the selection of progenies it is sufficient to make the evaluation in pure stand.

I. — INTRODUCTION

Spaced plant nurseries are of common use in the procedures of forage crop breeding. They are often obligatory in the progeny test, when a poor amount of seed is available. Obviously, there is no question about the superiority of the progeny test realized in dense sward.

At present, many breeders ask themselves if by controlling the intraspecific competition it is possible to produce mixtures yielding over the single populations. It is evident that such an approach automatically imposes not only the use of dense sward « tout court », but the use of mixtures as well in a breeding scheme. It seems right to point out that the question wheter to use or not to use the mixture in a breeding scheme, is legitimate in forage crops independently from a possible inves-

(1) This work is supported by funds from « Centro Nazionale delle Ricerche » (C.N.R.) and conducted in cooperation as a part of the C.N.R.S., « Centre national de la Recherche scientifique » agreement.

tigation on the superiority of the mixture yield, and this because a synthetic variety is already the result of a mixture of several different combinations. In fact, it could happen, for instance, that the progenies of a polycross considered the best ones in pure stand, would not give the best synthetic variety because of the occurrence of situations of contest between them. At the same time, the progeny test made in pure stand does not allow to individuate, and then to exploit, eventual situations of cooperation. All the more this is true for the progenies derived by diallel crosses, if a synthetic variety has to be built. It is therefore important to know, which technical solution — mixture or pure stand — has to be used in the realization of the progeny test. In other words, one has to know the importance of the progeny association effects (group effects according to GRIFFING, 1967) in the evaluation of the combining ability of the parents.

All these problems have been studied in a series of experiments at the Institute of Lodi (ROTILI and ZANNONE, 1970, 1971). In this paper are presented the results of experiments lately concluded.

II. — MATERIAL AND METHODS

The research was conducted in two experiments, the first of which was realized in boxes, the second one in the field.

1. — *Experiment 1, in boxes*

It was realized in Rome.

a) four families S_0 having the following characteristics :

cv. « Florida »	1165	early	indicated as 1
cv. « Florida »	142	early	indicated as 2
cv. « Friulana »	259	late	indicated as 3
cv. « Friulana »	1388	very late	indicated as 4

These families were very similar in vigor

b) two culture types : the pure stand and six binary mixtures ;

c) five sowing densities, obtained by spacing the plants on the row at distances of 0.5, 0.6, 0.7, 1.0 and 4 cm ; the spacing of plants was of 0.6 cm for the mixtures. The densities used in this experiment ranged from 139 to 1 042 plants per m^2;

d) experimental units (boxes) 32 cm long, 18 cm wide and 50 cm deep (internal dimension) ;

e) two levels of water regime, normal (series N) and reduced to 50 p. 100 (series R) and five replications fully randomized.

2. — *Experiment 2, in field*

It was realized in Lodi.

a) Six populations having the following characteristics :

cv. « Europe »	early	indicated as A
cv. « Florida »	early	indicated as B
family N S_0	late	indicated as C
family P S_0	late	indicated as D
family Q S_0	late	indicated as E
family 1558 S_0	early	indicated as F

These populations were different in vigor.

b) three culture types : the monocultures, binary mixtures and one global mixture of all the six populations;

c) three sowing densities, obtained by spacing the plants on the row at distances of 0.7, 1.4 and 4.2 cm for the monocultures ; the spacing of the plants was of 1.4 cm for fifteen binary mixtures and one global mixture, and of 4.2 cm for six binary mixtures. The densities used in this experiment ranged from 119 to 714 plants per m^2 ; for the mixtures the density was 357 and 119 plants per m^2, respectively;

d) the experimental units were plots constituted of one row 99 cm long; the distance between the rows was 20 cm. A border of 66 cm was added on both ends of each row. The experiment involved four blocks;

e) in summertime, one irrigation was made during the first ten days after each cut. The same amount of water was supplied to each plot.

3. — *Techniques and experimental data*

Homogeneity in starting of the populations was obtained by the following procedures : seed calibration, sowing in Petri dishes, transplantation of seedlings having roots about 1 cm long and cotyledons well open. After about 10 days, abnormal seedlings which stopped development at the unifoliate leaf stage, were replaced by healthy seedlings. For the experiment in the field, the transplantation of the seedlings was made in boxes with removable bottoms. After 30 days, the bottoms were removed from the boxes and the boxes were buried in the field, according a scheme which allowed the realization of normal rows.

Twenty cuts were effected in the box experiment, and ten cuts in the field experiment. The collected data were :

a) dry weight per experimental unit,
b) dry weight per plant,
c) dry weight (roots) per experimental unit,
d) plant height,
e) number of stems per plant,
f) number of inflorescences per main stem,
g) mortality.

4. — *Analysis of the data*

Several different approaches were used

a) Measurement of the *plastic responses* (Jacquard, 1972) which are the direct response of populations to varying environmental conditions, their phenotypic plasticity. The plastic responses have been calculated by the ratio:

$$\frac{\text{performance in mixture}}{\text{performance in pure stand}} - 1$$

The types of situations produced by the association are : *competition*, when one population gains in comparison with its pure stand, and the other one shows a disadvantage ; *contest* when both populations suffer disadvantage ; *cooperation* when both populations suffer and advantage (Mather, 1969).

b) Calculation of direct (d_i) and associate (d_a) effects using a syncretic model derived from different authors (Williams, 1962 ; Chalbi, 1967 ; Griffing, 1967). The direct effect is the average yield of a population in presence of the others when compared with its pure stand ; the associate effect is the average yield of the partners of each population when compared with the average yield of all the pure stands ; each pure stand is included as partner of itself. The direct effect is also defined as *mean production effect*, the associate effect as *mean partner effect*.

A numerical example is reported in table 1.

c) Diallel analysis of the results, performed according to the model of Hayman (Chalbi, 1967). The parameters are:

a) general association ability,
b) specific association ability,
c) general domination ability,
d) specific domination ability.

The association abilities are the association effects measured by the analysis of the row and column sums.

The domination abilities are the differential effects of competition, measured by the analysis of the row and column differences.

d) Measurement of the mixture performance in percent, by comparison with :

— the pure stand of the better partner of each binary mixture,
— the best of the populations tested in the experiment.

TABLE I

Direct and associate effects. Dry matter yield per box
Numerical example (see Material and Methods)

		Common partner				Populations in mixture		Direct effect d_i
		1	2	3	4	Total	Mean	
Populations	1	**28.61**	34.10	27.68	33.00	94.78	31.59	+ 2.98
	2	26.24	**31.09**	30.58	36.94	93.76	31.25	+ 0.16
	3	31.02	29.14	**30.62**	44.32	104.48	34.82	+ 4.20
	4	25.26	21.32	27.72	**33.18**	74.32	24.77	— 8.41
Partners	Total	111.13	115.65	116.60	147.44	**123.50**		
	Mean	27.78	28.91	29.15	36.86		**30.87**	
Associate effect d_a		— 3.09	— 1.96	— 1.72	+ 5.99			

III. — RESULTS

The first results of this research have been already published (ROTILI *et al.*, 1974 ; ROTILI and ZANNONE, 1975). In addition, a part of the experimental data was placed at disposal of L. ASSEMAT (1974), who elaborated them with the GALLAIS's (1970) model.

In this paper, further data on the dry yield are considered.

1. — *Association effects on the individual populations*

The plastic responses for the successive cuts are shown in figures 1, 2, 3, 4.

Figure 1 shows the plastic responses for dry weight per box in Experiment 1, series N. It is evident that in whatever mixture one partner gains and the other decreases ; it means that always situations of competition are produced. After the 15th cut, situations of indifference seem to be reached in mixtures 1 + 2 and 2 + 4. The seasonal trend of plastic responses is also evident.

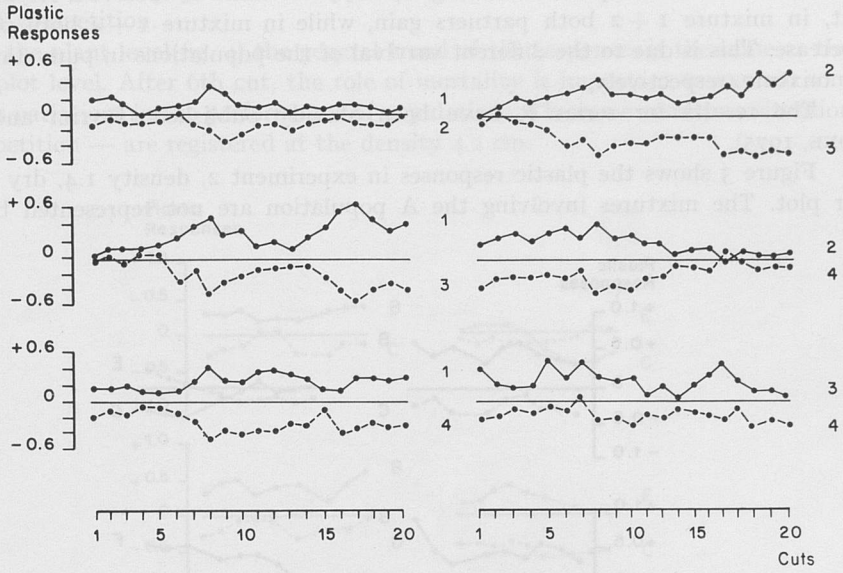


Fig. 1. — *Trend of the situations through 20 cuts*

Exp. 1, series N. Dry weight per box. On the abscisses the cuts, on the ordinates the plastic responses calculated by the ratio :

$$\frac{\text{performance in mixture}}{\text{performance in pure stand}} - 1$$

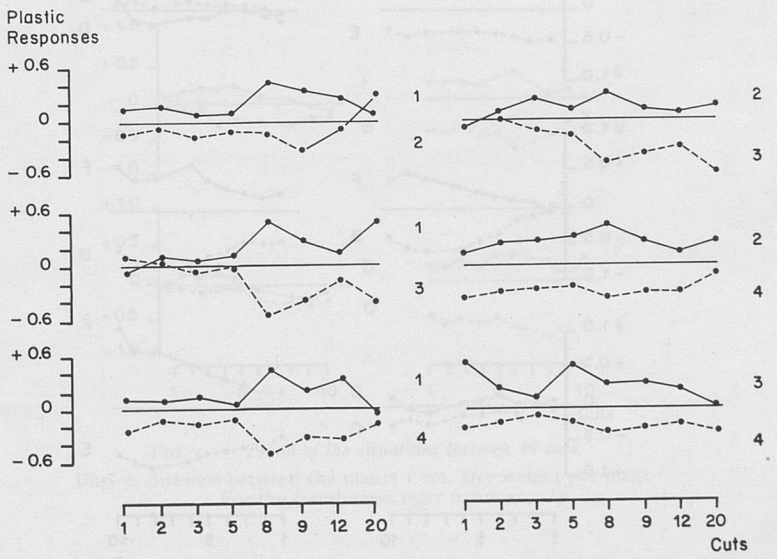


Fig. 2. — *Trend of the situations through 20 cuts*

Exp. 1, series N. Dry weight per plant. For the coordinates refer figure 1

At the individual plants level (fig. 2) the same trend is observed. At the 20th cut, in mixture 1 + 2 both partners gain, while in mixture 1 + 4 both partners decrease. This is due to the different survival of the populations in pure stand and in mixture respectively.

The results for series R have been already published (ROTILI and ZANNONE, 1975).

Figure 3 shows the plastic responses in experiment 2, density 1.4, dry weight per plot. The mixtures involving the A population are not represented because

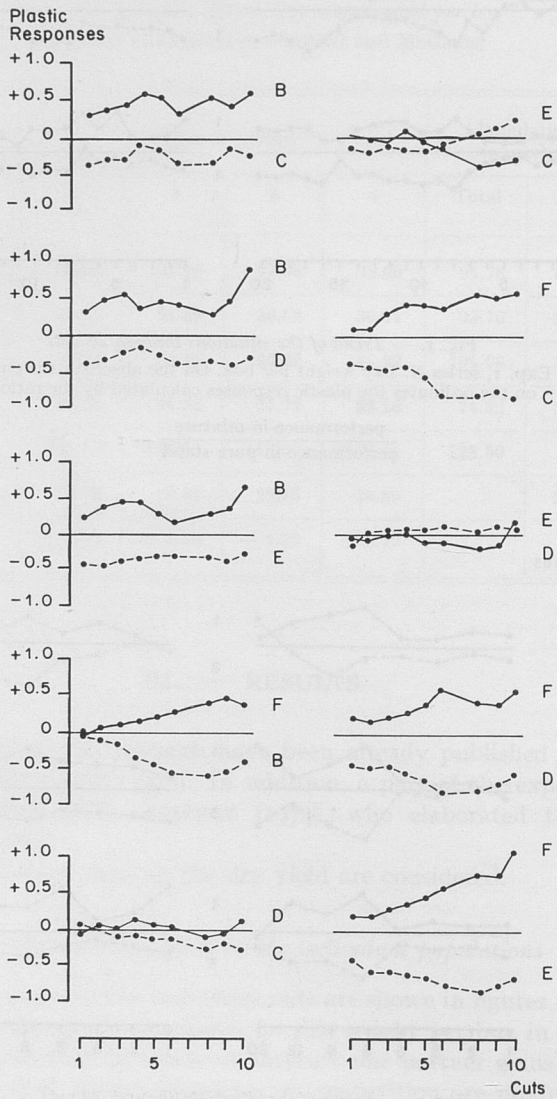


FIG. 3. — *Trend of the stiuations through 10 cuts*
Exp. 2, distance between the plants 1.4 cm.
Dry weight per plot. For the coordinates refer figure 1

after four cuts this population disappeared. All the detectable results show situations of competition.

At the plant level(fig. 4) the general trend of the responses is the same as that at the plot level. After 6th cut, the role of mortality is important to explain some peculiar variations in the performance of populations. The same results — situations of competition — are registered at the density 4.2 cm.

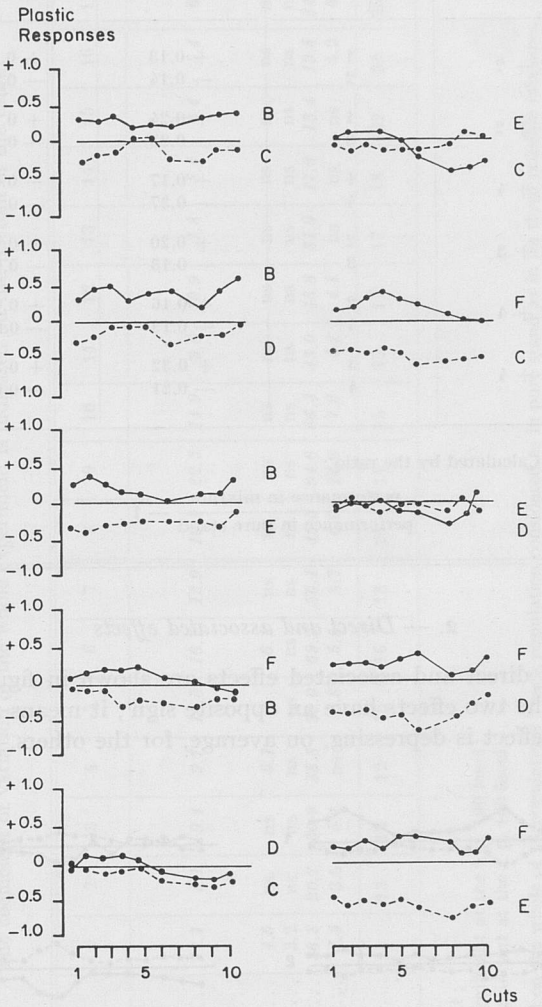


FIG. 4. — *Trend of the situations through 10 cuts*
Exp. 2, distance between the plants 1 cm. Dry weight per plant.
For the coordinates refer figure 1

In table 2 are reported the plastic responses for dry weight of roots and of stems + leaves evaluated at the 14th cut on the R series. The four populations give on root weight the same responses as on stems + leaves weight.

TABLE 2

Plastic responses (1) *registered on stems + leaves and on roots* (dry weight per box)
Experiment nº 1, series R, 14th cut

Mixture	Population	Stems + leaves	Roots
1 + 2	1	+ 0.13	+ 0.10
	2	— 0.14	— 0.21
1 + 2	1	+ 0.24	+ 0.25
	3	— 0.23	— 0.23
1 + 4	1	+ 0.17	+ 0.13
	4	— 0.37	— 0.26
2 + 3	2	+ 0.20	+ 0.13
	3	— 0.13	— 0.03
2 + 4	2	+ 0.16	+ 0.05
	4	— 0.19	— 0.05
3 + 4	3	+ 0.32	+ 0.31
	4	— 0.21	— 0.05

(1) Calculated by the ratio :

$$\frac{\text{performance in mixture}}{\text{performance in pure stand}} - 1$$

2. — *Direct and associated effects*

The values of direct and associated effects are shown in figures 5 and 6. For each population, the two effects have an opposite sign ; it means that a population having a positive effect is depressing, on average, for the others. Furthermore, the

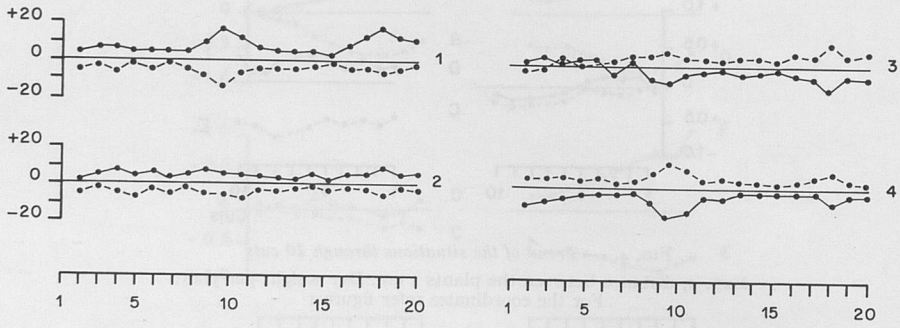


FIG. 5. — *Trend of direct and associated effects through 20 cuts*
Exp. 1, series N. Dry weight per box. On the abscisses the cuts, on the ordinates the direct (d_i) and associate (d_a) effects (see table 1)

d_i ●——●
d_a ●- - - -●

TABLE 3

F values (1) *for forage yield* (per box) *analysis of variance.*

Experiment nº 1, Series N.

The coefficient of variation of the whole experiment is indicated on the bottom of the table

Rank of cuts	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Simple analysis (2)																				
Between populations ...	*11.1*	*5.1*	*9.4*	*9.7*	*10.5*	*16.7*	*12.9*	*10.9*	*22.3*	*14.9*	*9.8*	*10.9*	*7.8*	*8.4*	*3.4*	*5.4*	*6.5*	*7.1*	*6.3*	4.8
Diallel analysis (3)																				
a)	*4.6*	ns	ns	*5.1*	ns	*6.1*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
b)	3.2	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
c)	*36.8*	*20.7*	*39.9*	*38.8*	*39.0*	*69.2*	*55.1*	*45.5*	*94.6*	*66.3*	*43.0*	*48.8*	*31.9*	*17.9*	*13.4*	*19.8*	*24.3*	*27.7*	*25.5*	*19.3*
d)	*7.5*	3.5	*5.1*	ns	*6.8*	*5.5*	3.7	*6.0*	*14.6*	*7.2*	*4.1*	*4.1*	ns	ns	ns	4.3	*6.5*	*6.6*	5.1	4.3
Coefficient of variation	11	13	12	12	16	16	18	21	14	15	17	12	17	18	32	31	25	23	23	25

(1) ns : not significant ;
in roman type : significant at the 5 p. 100 level ;
in italic : significant at the 1 p. 100 level.

(2) analysis performed on the whole of 16 populations ; each population considered as in pure stand as in its three possible mixtures.

(3) *a* : general association ability ;
b : specific association ability ;
c : general domination ability ;
d : specific domination ability.

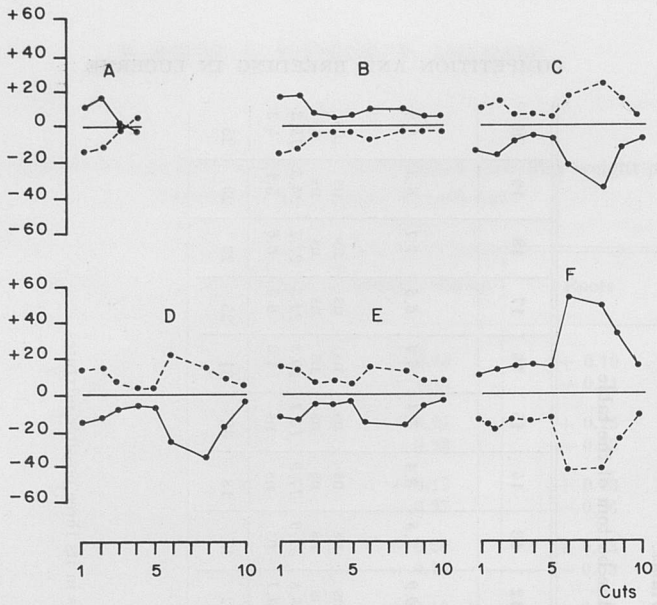


FIG. 6. — *Trend of direct and associate effects through 10 cuts*
Exp. 2, distance between the plants 1.4 cm.
Dry weight per plot. For the coordinates refer figure 5

d_i ●——●
d_a ●- - - -●

TABLE 4

F values (1) *for forage yield* (per plot) *analysis of the variance*
Experiment nº 2, distance between the plants cm 1.4.
The coefficient of variation of the whole experiment is indicated on the bottom of the table

Rank of cuts	1	2	3	4	5	6	8	9	10
Simple analysis (2)									
Between populations ..	*76.83*	*38.86*	*28.05*	*26.70*	*13.99*	*16.52*	*9.64*	*10.61*	*6.32*
Between blocks	*4.64*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	3.30
Diallel analysis (3)									
a	*110.30*	*33.23*	*33.65*	*39.63*	*11.20*	*9.54*	ns	*4.82*	2.72
b	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
c	*421.33*	*233.97*	*159.98*	*141.69*	*70.84*	*87.84*	*53.82*	*56.73*	33.26
d	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Coefficient of variation	11	13	16	21	28	30	32	34	42

(1) ns : not significant ;
in roman type : significant at the 5 p. 100 level ;
in italic : significant at the 1 p. 100 level ;

(2) analysis performed on the whole of 36 populations ; each population considered as in pure stand as in its five possible mixtures.

(3) *a* : general association ability ;
b : specific association ability ;
c : general domination ability ;
d : specific domination ability.

Note : The 7th cut is not represented because the binary mixtures were harvested without distinguishing the two components.

greater the direct effect, the greater is the associated effect of each population. The seasonal trend in both experiments is also evident.

3. — *Diallel analysis*

The effects caused by the differences between populations in the different situations are always significant (table 3). The general association ability is only very occasionally significant, while the specific association ability is practically never significant. On the contrary, the general domination ability is always highly significant, while the significance of the specific domination ability is variable through the cuts.

In the field experiment (table 4) both general association and general domination abilities are highly significant ; but the variance for general domination ability is considerably larger than for general association ability. Specific association and domination abilities are never significant. The same results are obtained at density 4.2.

The results of analysis at the plant and at the root levels agree with those concerning the box and the plot levels.

4. — *Mixture performance*

The values of the comparison of the mixtures to the better partner (cf. Material and Methods) are reported in the figures 7 and 8. If we take into account only the gains greater than 10 p. 100, mixtures 1 + 3 and 3 + 4 show some positive values. But only for the mixture 3 + 4 the values show statistical significance to the 5th

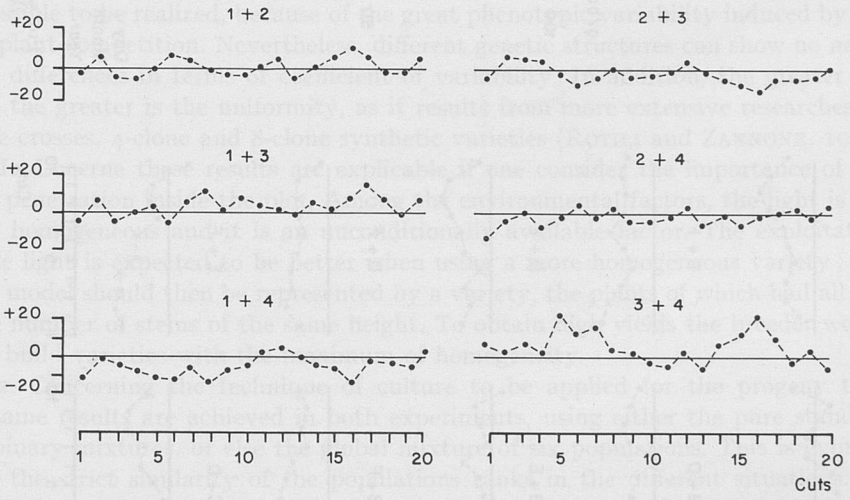


FIG. 7. — *Mixture* (M) *vs. better partner pure stand* (BP) *performance through 20 cuts*
Exp. 1, series N. Dry weight per box. On the abscisses the cuts, on the ordinates the ratio :

$$\left(\frac{\text{mixture}}{\text{better partner}} - 1\right) \cdot 100$$

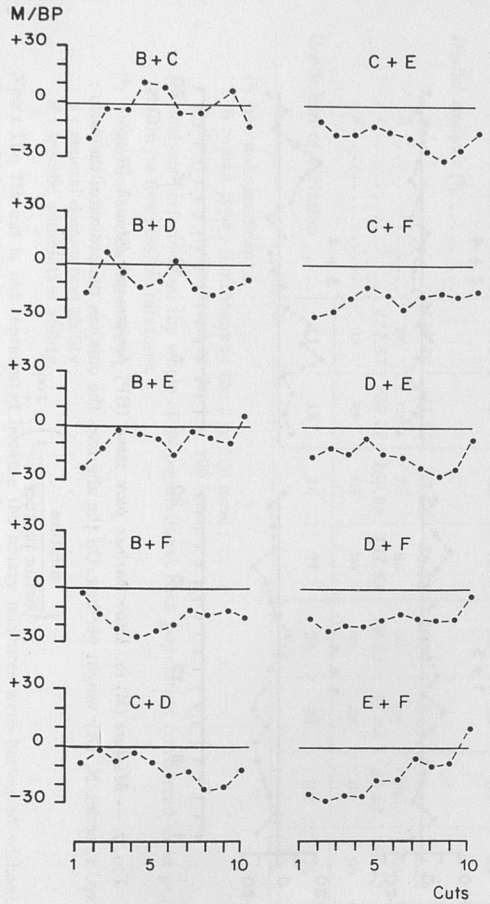


FIG. 8. — *Mixture* (M) *vs. better partner pure stand* (BP) *performance through 10 cuts*. Exp. 2, distance between the plants 1.4 cm. Dry weight per plot. For the coordinates refer figure 7.

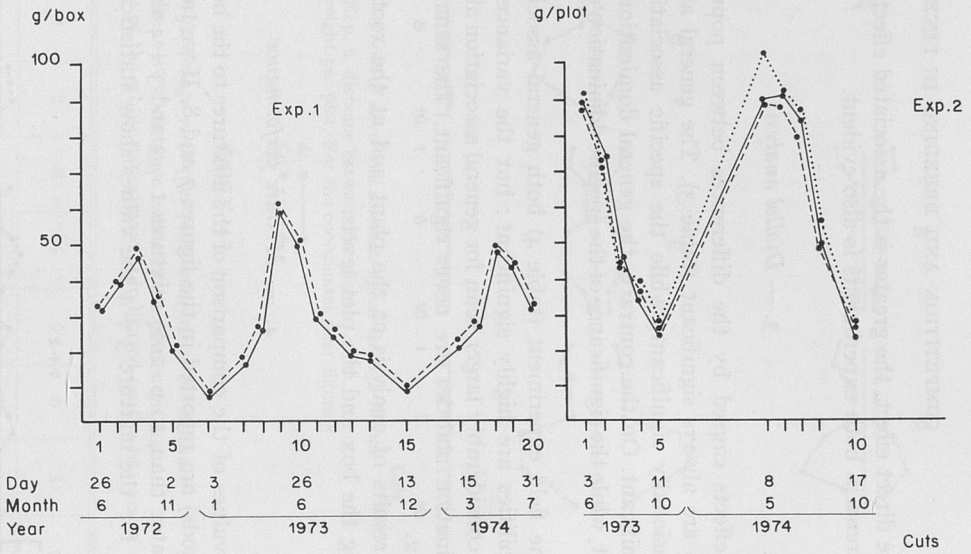


FIG. 9. — *Average forage yield of pure stands* (P), *binary mixtures* (BM) *and global mixture* (GM) *through the cuts*. On the abscisses the rank and dates of cuts, on the ordinates the mean production in g/experimental unit.

P
BM
GM

and 16th cuts. It must be noted that this mixture in the series R shows always negative values. In the field experiment (fig. 8), the great disadvantage of the mixtures versus the better partner is quite evident.

In the comparison of mixtures to the best tested population, we have registered negative values only.

Concerning the mean yield performance of the pure stands and mixtures, there is no appreciable difference neither in box nor in field (fig. 9).

IV. — DISCUSSION AND CONCLUSIONS

1. In general, only situations of competition were observed in both experiments, in agreement with the previous researches (ROTILI and ZANNONE, 1970). Also when a mixture yields more than the better partner, the results would not be of agronomical value, the great over-compensation being in connection with the elimination of the weaker partner. Only mixtures showing cooperation between the partners should be suitable from the agronomic point of view, but the data here presented are discouraging for such a way of research.

The specific association ability is never significant in both experiments ; the general association ability is significant only in the field experiment, but the variance for the general domination ability is considerably larger than for general association ability. This is the consequence of the generalized situations of compensation. The aim of the breeding remains therefore the improvement of the monogenotypic culture. This conclusion is in agreement with the needs of the industrial manipulation of the product, requiring the maximum of homogeneity.

In forage crops, which are cultivated at high densities, a high uniformity is impossible to be realized, because of the great phenotypic variability induced by the interplant competition. Nevertheless, different genetic structures can show no negligible differences in terms of coefficient of variability. In addition, the greater the yield the greater is the uniformity, as it results from more extensive researches on single crosses, 4-clone and 8-clone synthetic varieties (ROTILI and ZANNONE, 1975).

In Lucerne these results are explicable if one consider the importance of the light penetration inside the plot. Among the environmental factors, the light is the most homogeneous and it is an unconditionally available factor. The exploitation of the light is expected to be better when using a more homogeneous variety ; the ideal model should then be represented by a variety, the plants of which had all the same number of stems of the same height. To obtain high yields the breeder would then build varieties with the maximum of homogeneity.

2. Concerning the technique of culture to be applied for the progeny test, the same results are achieved in both experiments, using either the pure stand or the binary mixtures, or else the global mixture of six populations. This is evinced from the strict similarity of the populations ranks in the different situations. In addition, the averages of populations in pure stands, in binary mixtures and in global mixture are not different (fig 10, 11). This means that the performance of a progeny in mixture is predictable from its pure stand. These results are in agreement with those of a previous experiment carried on 12 progenies of Lucerne, tested in pure

stand as well as in the global mixture (ROTILI and ZANNONE, 1971). In the global mixture, a greater variation is evident. As a first conclusion, in a breeding scheme for Lucerne it seems non-realistic to take into account the associate effects, because for all the populations we have studied, the associate effect value is almost equal to the direct effect but of the opposite sign. In the phenotypic selection of parental clones, maximum of both efficacy and rapidity is obtained considering the direct effect only ; in the selection of progenies it is sufficient to make the evaluation in pure stand.

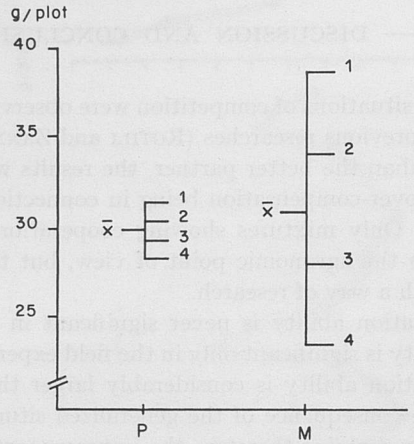


FIG. 10. — *Rank of populations in pure stand* (P) *and in mixture* (M)
Exp. 1, series N. Forage yield per box, average of 20 cuts

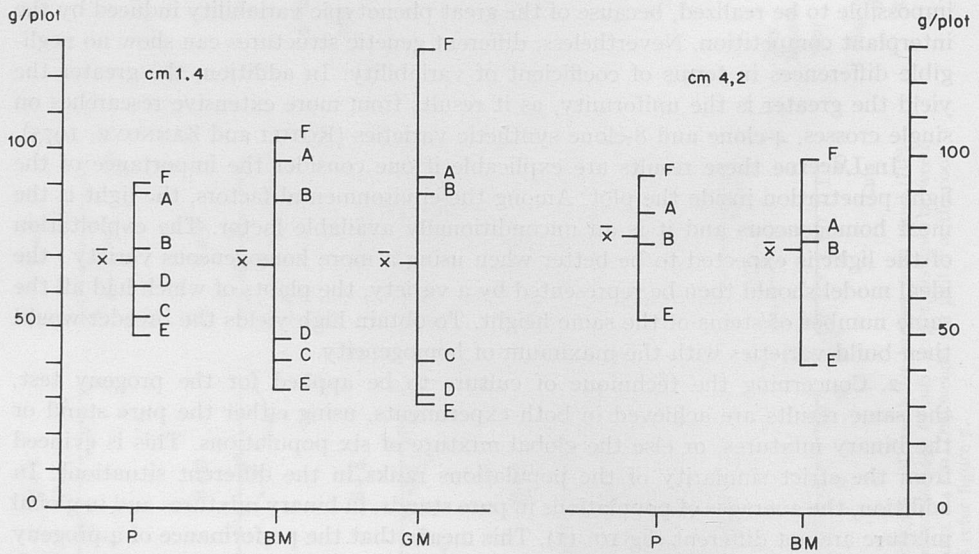


FIG. 11. — *Rank of populations in pure stand* (P), *in binary mixture* (BM) *and in global mixture* (GM)
Exp. 2. Forage yield per plot, average of 3 cuts

The best binary mixtures derive from the best populations (fig. 12). This result is explained by the fact that the closer are the values of each two populations, the lower are their plastic responses in the binary mixture (fig 1,4).

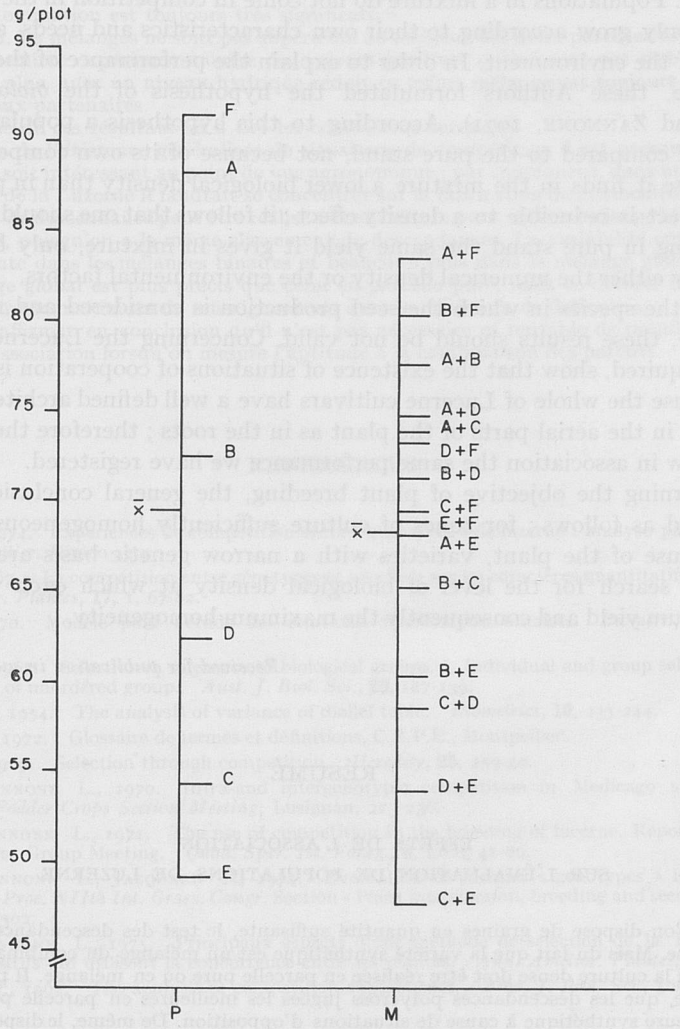


FIG. 12. — *Rank of pure stand* (P) *and binary mixture* (M) *forage yield in g/plot*
Exp. 2, distance between the plants 1.4 cm. Average of 3 cuts

Concerning the technique of culture for progeny test, the global mixture shows a greater discriminating capacity. Nevertheless, the pure stand is the procedure which gives the maximum of information with the minimum of difficulties.

The final conclusion is that the *effects of association are not important in the evaluation of the combinig abilities of the parents.*

3. The present results suggest again the following question : in case of the Lucerne, can the performance of a population in mixture be explained by notions as association, domination or competition ability ? ROTILI and ZANNONE (1971) assert that such notions, derived from plant breeding, are not only unnecessary but misleading. Populations in a mixture do not come in competition in the literal sense, but they only grow according to their own characteristics and needs, and following the offer of the environment. In order to explain the performance of the populations in mixture, these Authors formulated the hypothesis of the *biological density* (ROTILI and ZANNONE, 1971). According to this hypothesis a population gains in mixture, if compared to the pure stand, not because of its own competitive ability but because it finds in the mixture a lower biological density than in pure stand. A partner effect is reducible to a density effect ; it follows that one should keep a population giving in pure stand the same yield it gives in mixture, only by modifying accordingly either the numerical density or the environmental factors.

4. In the species in which the seed production is considered and not the plant as a whole, these results should be not valid. Concerning the Lucerne, the results till now acquired, show that the existence of situations of cooperation is improbable. That because the whole of Lucerne cultivars have a well defined architecture, homogeneous as in the aerial parts of the plant as in the roots ; therefore they will presumably show in association the same performance we have registered.

Concerning the objective of plant breeding, the general conclusion should be summarized as follows ; for zones of culture sufficiently homogeneous and for the industrial use of the plant, varieties with a narrow genetic basis are to be built. One must search for the level of biological density at which each variety bears the maximum yield and consequently the maximum homogeneity.

Received for publication in august 1975.

RÉSUMÉ

EFFETS DE L'ASSOCIATION SUR L'ÉVALUATION DE POPULATIONS DE LUZERNE

Lorsqu'on dispose de graines en quantité suffisante, le test des descendances est réalisé en culture dense. Mais du fait que la variété synthétique est un mélange de combinaisons, il faut se demander si la culture dense doit être réalisée en parcelle pure ou en mélange. Il pourrait arriver, par exemple, que les descendances polycross jugées les meilleures en parcelle pure ne donnent pas la meilleure synthétique à cause de situations d'opposition. De même, le dispositif en parcelle pure ne permet pas de repérer et d'exploiter les situations de coopération. Bref, il convient de savoir s'il faut prendre en charge les effets de l'association lorsqu'on mesure l'aptitude à la combinaison des parents.

Les résultats exposés concernent la matière sèche de deux expériences conduites à Rome et à Lodi. La première expérience a été effectuée en caissettes. La dimension des caissettes était : hauteur 50 cm, longueur 30 cm, largeur 20 cm. En utilisant 4 familles S_0, on a étudié 4 monocultures et 6 mélanges binaires. La deuxième expérience a été réalisée sur le terrain ; on a utilisé 6 populations, dont 4 familles S_0 et 2 variétés commerciales ; 6 monocultures, 15 mélanges binaires et 1 mélange global ont été étudiés.

L'analyse des donnés concerne la mesure des réponses plastiques, des effets directs et associés, des aptitudes à l'association et à la domination, et enfin la mesure de la performance des mélanges par rapport au meilleur des deux partenaires et à la meilleure population testée.

L'existence généralisée de situations de compétition a été régistrée soit dans l'expérience en caissettes, soit dans celle sur terrain. En ce qui concerne les effets directs et associés, les deux expériences montrent les mêmes résultats : pour chaque population un effet direct positif s'accompagne d'un effet associé négatif et vice versa ; plus fort est l'effet direct, plus fort est aussi l'effet associé.

L'aptitude générale à l'association est significative seulement dans la deuxième expérience, tandis que l'aptitude spécifique à l'association n'est jamais significative ; par contre, l'aptitude générale à la domination est toujours très significative.

En général, les mélanges ne sont pas supérieurs au meilleur des deux partenaires. Le mélange 3 + 4 de la première expérience montre des valeurs positives qui ne sont pas stables à travers les coupes ; de plus, avec un niveau hydrique réduit ce même mélange est toujours inférieur au meilleur des deux partenaires.

Sur la base de ces résultats on a tiré les conclusions suivantes :

1. A cause de l'existence généralisée de situations de compétition il est presque impossible qu'un mélange soit intéressant au point de vue agronomique ; par conséquent, dans un programme d'amélioration de la Luzerne il faudrait se concentrer sur la fabrication de monocultures.

2. Le test de descendance peut être réalisé soit en culture pure, soit en mélange binaire, soit en mélange global, puisqu'on a le même classement de descendances. La variabilité entre les populations augmente dans les mélanges binaires et beaucoup plus dans le mélange global. Le dispositif en mélange global est plus précis que celui en parcelle pure, mais ce dernier est à préférer parce qu'il donne le maximum de renseignements avec le minimum de difficultés.

On peut affirmer en conclusion qu'il n'est pas nécessaire ni rentable de prendre en charge les effets de l'association lorsqu'on mesure l'aptitude à la combinaison des parents.

REFERENCES

ASSEMAT L., 1974. Experiences de compétition entre « genotypes » de luzerne : analyse partielle. D.E.A, *Acad. Montpellier*. Miméo 42 p.

CHALBI N., 1967. La compétition entre génotypes et ses effets sur les caractères quantitatifs de la luzerne. *Ann. Amélior. Plantes*, **17**, 1, 67-82.

GALLAIS A.,1970. Modèle pour l'étude des relations d'association binaires. *Biométr., Praxim.*, **11**, 51-80.

GRIFFING B., 1967. Selection in reference to biological groups. I. Individual and group selection applied to population of unordered group. *Aust. J. Biol. Sci.*, **20**, 127-139.

HAYMAN B. I., 1954. The analysis of variance of diallel table. *Biometrics*, **10**, 235-244.

JACQUARD P., 1972. Glossaire de termes et définitions, C.E.P.E., Montpellier.

MATHER K., 1969. Selection through competition. *Heredity*, **25**, 259-40.

ROTILI P., ZANNONE L., 1970. Intra-and intergenotypic competition in Medicago sativa. *Report of Eucarpia Fodder Crops Section Meeting*, Lusignan, 213-236.

ROTILI P., ZANNONE L., 1971. The use of competition in the breeding of lucerne. Report of Eucarpia *Medicago sativa* Group Meeting. *Quad. Sper. Ist. Forag.*, **3**, Lodi, 41-86.

ROTILI P., ZANNONE L., JACQUARD P., 1974. Evaluation of lucerne « genotypes » in competitive conditions. —*Proc. XIIth Int. Grass. Congr.* Section « Plant introduction, breeding and seed production », Moscow, 297-302.

ROTILI P,. ZANNONE L., 1975. Principaux aspects d'une méthode de sélection de la Luzerne basée sur des dispositifs qui utilisent la concurrence entre les plantes. *Ann. Amélior. Plantes*, **25** (1), 29-49.

WILLIAMS E. J., 1962. The analysis of competition experiments. *Aust. J. Biol. Sci.*, 509-25.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (2), 157-171.

PROPOSITION D'UN MODÈLE DE SIMULATION APPLIQUÉ A LA GÉNÉTIQUE DES CARACTÈRES QUANTITATIFS

H. FEYT

Laboratoire d'Amélioration des Plantes,
Université Paris-Sud, Centre d'Orsay,
91405 Orsay

RÉSUMÉ

Les contenus des effets génétiques tels qu'ils sont définis par la génétique quantitative et par la génétique formelle sont présentés et discutés. Un modèle de simulation, qui individualise les effets d'additivité, de dominance, d'épistasie *cis* ou *trans*, est proposé et discuté.

L'amélioration génétique d'une espèce animale ou végétale porte très souvent sur des caractères dont la variation est continue et le déterminisme complexe ; leur étude ne peut être abordée directement à partir des lois de Mendel. On doit à FISHER (1918) les bases du modèle global de la génétique quantitative : proposé tout d'abord pour un locus à deux allèles le modèle a été généralisé à un nombre quelconque de loci portant des nombres arbitraires d'allèles par COCKERHAM (1954) et KEMPTHORNE (1954, 1957). Reposant sur des concepts strictement mendéliens il permet d'estimer les paramètres génétiques d'une population à partir desquels il sera possible de prévoir l'évolution de cette population soumise à un système de croisement donné. Le modèle global de la génétique quantitative est donc un outil extrêmement précieux au service du sélectionneur. Cependant, deux types de critiques peuvent être formulées à son sujet :

1. *Critiques liées au modèle lui-même*

Mis à part quelques cas particuliers, GALLAIS (1970, 1974) par exemple, deux hypothèses de départ doivent généralement être faites pour pouvoir interpréter en termes de génétique quantitative les paramètres statistiques estimés par la méthode des moindres carrés.

— Les fréquences géniques sont égales à leur probabilité, ce qui implique une

population initiale de taille infinie, à l'intérieur de laquelle les croisements se font au hasard : c'est l'hypothèse de panmixie.

— Il y a indépendance entre les loci : la fréquence d'un génotype est égale au produit des fréquences des allèles qui le composent : c'est l'hypothèse de non linkage.

2. *Des critiques liées à l'utilisation du modèle*

Sa manipulation nécessite tout d'abord une bonne connaissance de l'outil statistique et un effort de calcul qui peut paraître pour certains généticiens disproportionnés aux résultats obtenus. Il se trouve en outre des situations où l'introduction d'un certain nombre de contraintes conduit à une extrême lourdeur, voire une impossibilité pratique d'obtenir une réponse au problème posé. C'est le cas, par exemple, de la comparaison de deux méthodes de sélection si l'on veut faire intervenir simultanément plusieurs paramètres tels que : effectif limité, taux de sélection variable, linkage, non indépendance milieu-environnement, etc.

Dans de telles situations, l'approche par simulation peut se révéler extrêmement utile ; cette technique présente en effet une très grande souplesse d'adaptation au problème posé qui lui permet de tenir compte simultanément d'un grand nombre de facteurs. Mais elle a aussi ses limites : l'intérêt des renseignements qu'elle peut fournir dépend essentiellement de la manière dont est posé le problème et de la qualité du modèle de simulation que l'on utilisera. Le but de cet article est de présenter un modèle qui essaie de répondre à deux préoccupations :

1. Une meilleure compréhension des effets génétiques tels qu'ils sont définis en génétique formelle et tels que les définit le modèle global de la génétique quantitative.

2. La mise au point d'un outil qui, outre l'intérêt pédagogique qu'il présente, permettrait de fournir rapidement au sélectionneur des informations sur le choix d'un système de croisement ou d'une méthode de sélection.

Nous avons donc cherché à mettre au point un modèle dans lequel les importances relatives des différents types d'effets génétiques tels qu'ils sont familiers au sélectionneur sont des paramètres d'entrée qu'il serait possible de faire varier.

Après avoir rappelé les caractéristiques des effets génétiques, des points de vue de la génétique formelle et de la génétique quantitative, nous proposerons et discuterons un modèle de simulation.

Dans le modèle global de la génétique quantitative, la valeur génétique d'un individu est décomposée suivant un modèle statistique linéaire faisant intervenir un effet principal « Additivité », une interaction entre effets principaux à un même locus « Dominance », et des interactions entre loci regroupées sous le terme « Épistasie ». L'estimation de ces composantes se faisant par la méthode des moindres carrés, les valeurs des paramètres ainsi obtenues n'ont qu'une signification statistique qui conduit à les distinguer fondamentalement des effets génétiques de mêmes noms tels qu'ils sont présentés par la génétique formelle ou le modèle de MATHER (1949). Cette ambiguïté de vocabulaire peut être levée en considérant les figures 1 et 2 qui se rapportent au cas de 1 locus avec 2 allèles.

En génétique formelle il y a dominance si la valeur de l'hétérozygote n'est pas égale à la moyenne des deux parents, c'est-à-dire si $h \neq 0$. Cette valeur h est calculée par référence aux performances des deux homozygotes correspondants qui permet-

tent de définir les valeurs additives d_a et d_A des deux allèles a et A ; ces trois paramètres sont indépendants du nombre, de la nature et de la fréquence des allèles présents à ce locus.

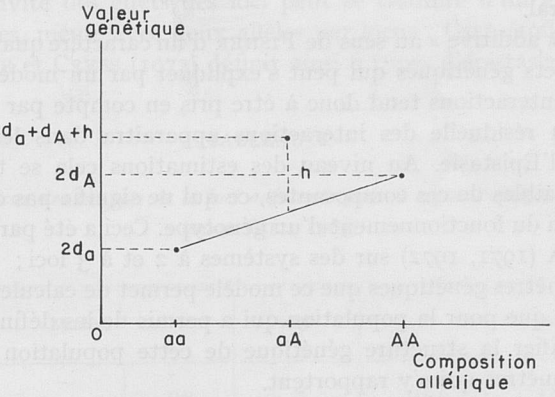


FIG. 1. — *Définition des effets génétiques par la génétique formelle*

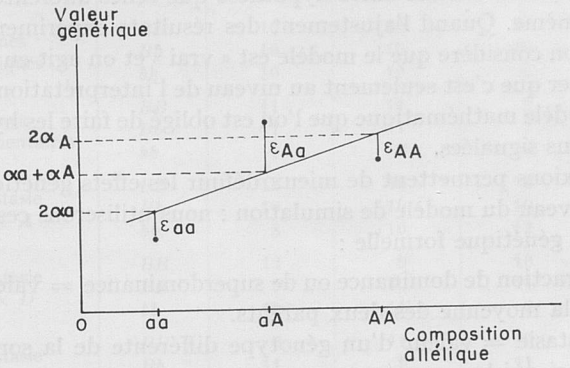


FIG. 2. — *Définition des effets génétiques dans le modèle global de la génétique quantitative pour des fréquences alléliques* $p_A = q_a = 0{,}5$

Le modèle global de la génétique quantitative attribue aux effets « additifs » α_a et α_A des allèles A et a, la valeur qui minimise, suivant le critère des moindres carrés, l'expression :

$$D^2 = p_A^2 (y_{AA} - 2\alpha_A)^2 + 2p_A q_a (y_{Aa} - \alpha_A - \alpha_a)^2 + q_a^2 (y_{aa} - 2\alpha_a)^2$$

qui correspond au modèle linéaire suivant :

$$\begin{aligned} y_{AA} &= \alpha_A + \alpha_A + \varepsilon_{AA} \\ y_{Aa} &= \alpha_A + \alpha_a + \varepsilon_{Aa} \\ y_{aa} &= \alpha_a + \alpha_a + \varepsilon_{aa} \end{aligned}$$

On définit ainsi une droite de régression à partir de laquelle sont calculés les écarts au modèle additif qui se réduisent dans le cas présent, aux interactions de dominance ε_{AA}, ε_{Aa} et ε_{aa}. Cette définition fait apparaître les propriétés suivantes :

— les effets « additif » α_A et α_a dépendent des fréquences alléliques p_A et q_a ;

— les écarts au modèle additif se retrouvent au niveau des trois génotypes sous forme d'une interaction ;

— la part laissée à cette interaction est minimum (selon le critère des moindres carrés).

Ce rappel au niveau d'un locus à 2 allèles permet de faire les remarques suivantes dans le cas général.

— La part « additive » au sens de FISHER d'un caractère quantitatif correspond à la part des effets génétiques qui peut s'expliquer par un modèle linéaire additif. L'ensemble des interactions tend donc à être pris en compte par l'effet principal et seule la fraction résiduelle des interactions apparaîtra dans les composantes de Dominance ou d'Épistasie. Au niveau des estimations cela se traduit en général par des valeurs faibles de ces composantes, ce qui ne signifie pas qu'elles sont négligeables au niveau du fonctionnement d'un génotype. Ceci a été particulièrement bien montré par JANA (1971, 1972) sur des systèmes à 2 et à 3 loci ;

— les paramètres génétiques que ce modèle permet de calculer ne sont valables, en toute rigueur, que pour la population qui a permis de les définir. Tout processus qui tend à modifier la structure génétique de cette population modifie aussi les valeurs des paramètres qui s'y rapportent.

— Dans la pratique d'un programme de sélection, l'utilisation d'un modèle linéaire ne nécessite aucune autre hypothèse que celles afférentes au modèle mathématique lui-même. Quand l'ajustement des résultats expérimentaux au modèle est satisfaisant, on considère que le modèle est « vrai » et on agit en conséquence. Il faut bien remarquer que c'est seulement au niveau de l'interprétation génétique des paramètres du modèle mathématique que l'on est obligé de faire les hypothèses génétiques que nous avons signalées.

Ces réflexions permettent de mieux définir les effets génétiques que nous introduisons au niveau du modèle de simulation : nous utiliserons ces termes uniquement au sens de la génétique formelle :

interaction de dominance ou de superdominance = valeur de l'hétérozygote différente de la moyenne des deux parents.

Épistasie = valeur d'un génotype différente de la somme des effets individuels des loci qui le composent.

LE MODÈLE

Nous ne considèrerons ici que des individus diploïdes, avec une paire de chromosomes comprenant 36 loci portant les allèles 0 ou 1. Chaque locus peut donc avoir les trois états 00,01 ou 11. Pour chaque locus on définit 3 séries de valeurs suivant le niveau d'interaction :

Niveau d'interaction	Composition des loci		
	0 0	0 1	1 1
0	0	1	2
Dominance stricte	0	2	2
Superdominance	0	3	2

Pour chaque expérience doivent être définies, soit en probabilité, soit arbitrairement les proportions relatives (en p. 100) des loci additifs, dominants et superdominants, ainsi que leur localisation sur le chromosome.

La non additivité des effets des loci peut se traduire d'un grand nombre de manières différentes, même avec deux allèles par locus : GILL (1965) repris partiellement par EDHAIE et CRESS (1973) définit ainsi 6 types d'épistasie (tabl. 1).

TABLEAU I

Valeur des couples de la loci adjacents pour 6 types d'épistasie
(selon GILL, 1965)

Modèle		*AA*	*Aa*	*aa*
Composition optimale	*BB*	7	10	11
	Bb	10	11	10
	bb	11	10	7
Gènes dupliqués	*BB*	10	10	10
	Bb	10	10	10
	bb	10	10	6
Gènes complémentaires	*BB*	11	11	9
	Bb	11	11	9
	bb	9	9	9
Épistasie *A* × *A*	*BB*	12	10	8
	Bb	10	10	10
	bb	8	10	12
Épistasie *A* × *D*	*BB*	12	9	10
	Bb	9	10	11
	bb	10	11	8
Épistasie *D* × *D*	*BB*	9	11	9
	Bb	11	9	11
	bb	9	11	9

Pour notre part, il nous importait de distinguer deux types d'interactions entre loci : celles qui sont systématiquement détruites à chaque gamétogenèse, caractéristiques de l'état diploïde : les interactions *trans*, et celles qui, aux crossing over près, sont conservées à travers la méiose : les interactions *cis*.

A cette fin nous avons défini des triplets de loci adjacents à l'intérieur desquels tous jouent un rôle équivalent. Si on admet qu'il n'y a interaction qu'entre allèles non identiques, on aboutit à 13 situations distinctes par le nombre d'interactions et leur répartition en *cis* et en *trans* (tabl. 2). Pour chaque expérience on définit (en p. 100) la population des triplets pour lesquels il y a des effets d'épistasie, et leur répartition sur le chromosome, qui peut être arbitraire ou tirée au hasard.

Deux coefficients EC et ET permettent de pondérer l'importance relative de ces deux types d'épistasie et un coefficient K permet de moduler la part des épistasies par rapport aux effets individuels des loci.

La valeur génétique V_i d'un triplet se calcule donc par la formule suivante :

$$V_i = (v_{i1} + v_{i2} + v_{i3}) \left[1 + \frac{1}{K} (EC\ n_{ci} + ET\ n_{ti})\right]$$

où v_{i1}, v_{i2}, v_{i3} : valeur des effets intralocus dans le triplet i ;

n_{ci} : nombre d'interactions de type *cis* dans le triplet i ;

n_{ti} : nombre d'interactions de type *trans* dans le triplet i.

La valeur génétique d'un individu s'obtient en faisant la somme des valeurs ainsi calculées de tous les triplets qui le composent.

TABLEAU 2

Répartition des 13 situations des triplets et des interactions cis *et* trans.

Quatre exemples de valeurs génétiques : Additivité seule ;
Additivité + Épistasie *cis* ; Additivité + Épistasie *trans* ;
Additivité + Épistasie *cis* + Épistasie *trans*
(Pour K = 2 et EC + ET = 1)

Description des situations	Nombre de situations	Nbre total d'inter-actions	Interactions épistatiques		Valeur génétique			
			cis n_c	*trans* n_t	ADD	ADD + *cis*	ADD + *trans*	ADD + *cis* + *trans*
	1	0	0	0	0	0	0	0
	6	5	2	2	1	2	2	2
	6	8	2	4	2	4	6	5
	3	8	4	4	2	6	6	6
	6	8	4	2	2	6	4	5
	2	9	0	6	3	3	12	7,5
	12	9	4	4	3	9	9	9
	6	9	4	2	3	9	6	7,5
	6	8	2	4	4	8	12	10
	3	8	4	4	4	12	12	12
	6	8	4	2	4	12	8	10
	6	5	2	2	5	10	10	10
	1	0	0	0	6	6	6	6

TABLEAU 3

Paramètres du modèle de simulation

Effets intralocus : ADD, DOM, SDOM : 2 paramètres indépendants.
Effets interlocus : EPI : 1 paramètre indépendant.
Pondération des effets interlocus : K : 1 paramètre indépendant.
Partage des épistasies en *cis* et *trans* : EC et ET : 1 paramètre indépendant.

Au total, il faut donc 5 paramètres indépendants pour que le modèle soit parfaitement déterminé. Nous donnons à titre d'exemple dans le tableau 2 les valeurs des différentes configurations de triplets sous 4 hypothèses génétiques (avec K = 2) :

I Additivité seule
II Additivité + Épistasie *cis* EC = 1 0, ET = 0
III Additivité + Épistasie *trans* EC = 0, ET = 1 0
IV Additivité + Épistasie *cis* + Épistasie *trans* : EC = 0 5, ET = 0 5.

On a ainsi un modèle extrêmement souple au moyen duquel on peut construire une population ayant une structure génétique quelconque, mise à part la contrainte biallélique.

DISCUSSION DU MODÈLE

Il existe une infinité de possibilités pour écrire un génotype avec des mots d'ordinateur puis exprimer une valeur génétique à partir de ce génotype. La discussion peut donc se faire autour de deux pôles :

— l'écriture du génotype : nombre de loci, nombre de chromosomes, nombre d'allèles par locus, poids des différents loci, taux de linkage, etc. ;

— traduction du génotype en valeur génétique : définition des interactions intralocus, définition des épistasies, leurs poids relatifs, etc.

Fraser (1970) rapportant les estimations de Serra, pense qu'il est raisonnable de prendre de 10 à 40 loci pour les études multigéniques, les extrêmes pouvant aller de 5 à 6 loci au minimum à 100 ou 200 au maximum. Le mot mémoire de l'Univac 1110 comprenants 36 bits, nous avons retenu ce nombre qui correspond à l'utilisation complète de l'information qui peut y être contenue. Dans un premier temps nous avons considéré une seule paire de chromosomes : la présence de plusieurs paires chromosomiques conduisant à superposer deux phénomènes : linkage entre les gènes d'une même paire, indépendance complète entre les gènes de paires distinctes.

Des conceptions récentes telles que celles de Pandey (1974) amènent à considérer que les caractères quantitatifs dépendent de quelques rares gènes majeurs dont l'effet est modulé par un grand nombre de gènes modificateurs. Mais dans la mesure où les gènes sont majeurs, ils sont identifiables et relèvent de la génétique formelle. C'est donc délibérément que nous nous sommes placés dans le cas de loci relativement nombreux et d'effets propres faibles et équivalents.

L'hypothèse la plus forte est celle du biallélisme. Grâce aux méthodes électrophorétiques on a pu mettre en évidence l'extrême polymorphisme qui règne au niveau de certains loci et dont le comportement n'est pas neutre comme le montrent en particulier les travaux de Clegg *et al.* (1972) et de Allard *et al.* (1972). Par ailleurs, on peut montrer, Gallais (1975), que le biallélisme en absence d'épistasie revient à établir une relation linéaire entre l'aptitude générale à la combinaison d'une lignée et sa valeur propre. Cette liaison indique donc un manque de généralité du modèle. Il serait tout à fait possible de simuler un multiallélisme en regroupant plusieurs bits pour former un allèle :

— avec deux bits $2^2 = 4$ allèles si on distingue les positions
— avec trois bits $2^3 = 8$ allèles si on distingue les positions etc.

En fait, le biallélisme constitue une simplification qui présente, tant au niveau de la technique de simulation (encombrement des mémoires, manipulation des génotypes) qu'à celui des effets génétiques, de très réels avantages qui nous l'ont fait conserver.

En ce qui concerne la traduction du génotype en valeur génétique nous avons repris le codage le plus simple pour les valeurs des locus : 0, 1, 2, 3. Nous avons seulement introduit une liberté supplémentaire : les différents loci d'un même génotype peuvent ne pas exprimer le même niveau d'interaction de dominance.

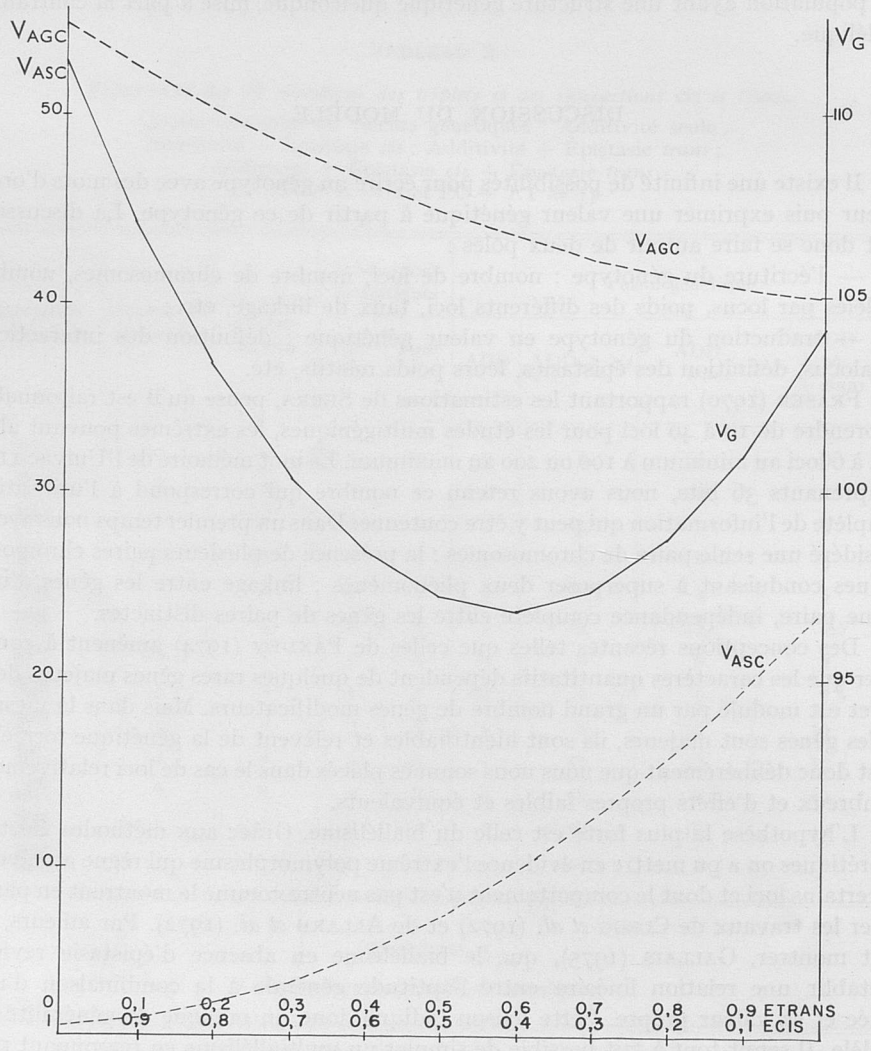


FIG. 3. — *Évolution des aptitudes à la combinaison et de la variance génétique totale en fonction du dosage des effets* cis-trans

(effets intra-locus additifs)

La traduction des effets épistatiques peut paraître plus arbitraire : notre but étant de séparer les effets *cis* et *trans*, nous aurions pu le faire à l'aide de doublets : avec 2 allèles par locus, cela conduit à 7 situations différentes dont deux seulement sont discriminantes pour ce critère, représentant en fréquence le 1/4 du total. Avec 3 loci, nous obtenons 13 situations différentes dont 6 sont discriminantes et représentent en fréquence la moitié des cas. La valeur épistatique des différents triplets revient à prendre comme critère celui du nombre optimum de gènes, suivant la formule proposée par WRIGHT (1935).

$$\text{Valeur génétique} = C - (\text{nombre d'allèles } (+) - Q)^2$$

C étant une constante arbitraire et Q le nombre d'allèles (+) optimum.

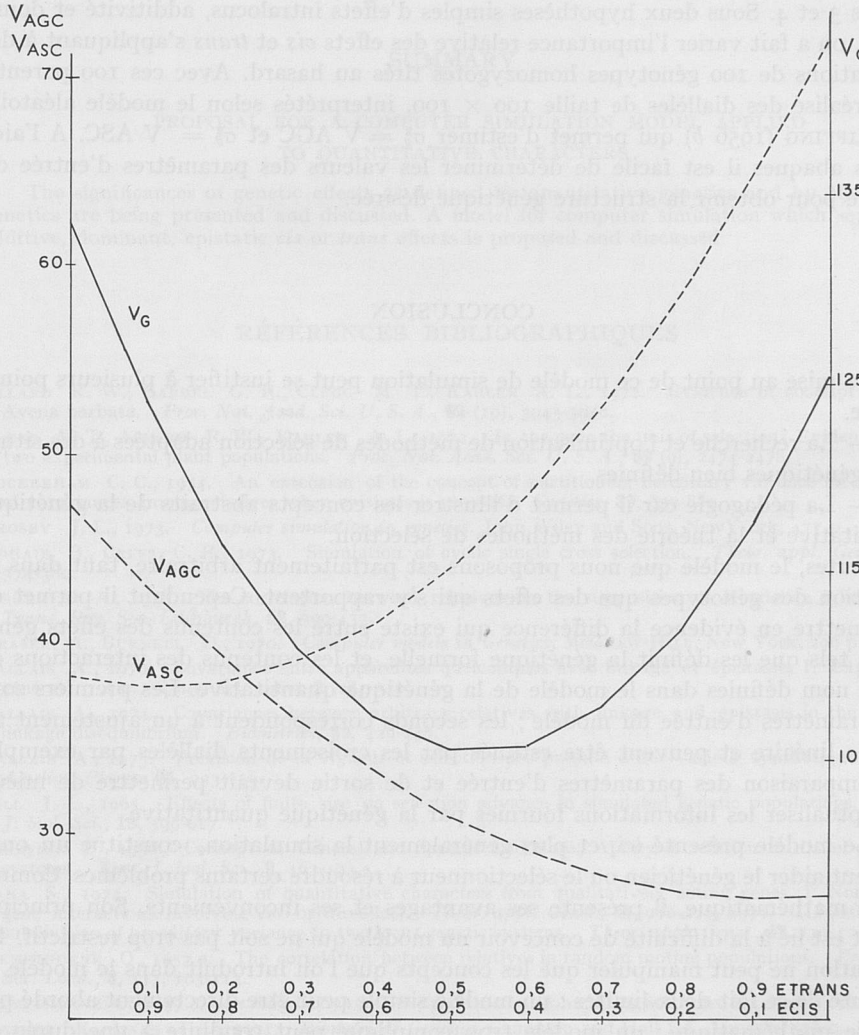


FIG. 4. — *Évolution des aptitudes à la combinaison et de la variance génétique totale en fonction du dosage des effets* cis-trans
(effets intra-locus dominants)

Ici nous avons pris C = 9 et Q = 3. Cela revient à considérer que la situation optimale pour le fonctionnement d'un génotype correspond à un mélange pour moitié des gènes de deux origines différentes. Les interactions de type dominant qui apparaissent dans le calcul sont décomptées afin de ne pas intervenir deux fois.

Le fait de nous limiter à ce seul type d'épistasie correspond à l'utilisation que nous voulons faire, dans un premier temps, du modèle. Par le jeu des coefficients il est possible de donner n'importe quelle valeur relative aux paramètres Variance AGC et Variance ASC, en individualisant les effets propres aux locus, et les effets épistatiques. Pour un sélectionneur, c'est le devenir des interactions à la méiose qui importe, et non leur nature : l'essentiel étant de pouvoir les séparer en conservant un modèle aussi simple que possible. Cette potentialité du modèle est illustrée par les figures 3 et 4. Sous deux hypothèses simples d'effets intralocus, additivité et dominance, on a fait varier l'importance relative des effets *cis* et *trans* s'appliquant à des populations de 100 génotypes homozygotes tirés au hasard. Avec ces 100 parents, on a réalisé des diallèles de taille 100 × 100, interprétés selon le modèle aléatoire de GRIFFING (1956 *b*) qui permet d'estimer σ^2_g = V AGC et σ^2_g = V ASC. A l'aide de ces abaques il est facile de déterminer les valeurs des paramètres d'entrée du modèle pour obtenir la structure génétique désirée.

CONCLUSION

La mise au point de ce modèle de simulation peut se justifier à plusieurs points de vue.

— La recherche et l'optimisation de méthodes de sélection adaptées à des situations génétiques bien définies.

— La pédagogie car il permet d'illustrer les concepts abstraits de la génétique quantitative et la théorie des méthodes de sélection.

Certes, le modèle que nous proposons est parfaitement arbitraire, tant dans la définition des génotypes que des effets qui s'y rapportent. Cependant il permet de bien mettre en évidence la différence qui existe entre les contenus des effets génétiques tels que les définit la génétique formelle, et les contenus des interactions de même nom définies dans le modèle de la génétique quantitative. Les premiers sont les paramètres d'entrée du modèle ; les seconds correspondent à un ajustement au modèle linéaire et peuvent être estimés par les croisements diallèles par exemple. La comparaison des paramètres d'entrée et de sortie devrait permettre de mieux conceptualiser les informations fournies par la génétique quantitative.

Le modèle présenté ici, et plus généralement la simulation, constitue un outil qui peut aider le généticien ou le sélectionneur à résoudre certains problèmes. Comme l'outil mathématique, il présente ses avantages et ses inconvénients. Son principal défaut est lié à la difficulté de concevoir un modèle qui ne soit pas trop restrictif. La simulation ne peut manipuler que les concepts que l'on introduit dans le modèle et présente de ce fait deux limites : un modèle simple peut être directement abordé par la voie mathématique ; un modèle trop compliqué peut conduire à une durée de calcul prohibitive ou fournir une masse de résultats telle, qu'elle est ininterprétable. Les défauts du traitement mathématique sont exactement inverses ; il permet

une analyse globale des effets génétiques mais peut manquer de souplesse quand il s'agit de l'appliquer à des situations concrètes.

Ainsi, loin de s'opposer, traitement mathématique et simulation sont deux techniques très complémentaires an service de la génétique quantitative, la simulation intervenant pour l'approche de problèmes complexes qui ne peuvent être résolus simplement à l'aide du calcul numérique ou algébrique. La simulation pourrait en outre présenter la même complémentarité pour des domaines en marge de la génétique mendélienne ou des conceptions de FISHER : hérédité non chromosomique, non indépendance milieu-environnement par exemple.

Reçu pour publication en mars 1975.

SUMMARY

PROPOSAL FOR A COMPUTER SIMULATION MODEL, APPLIED TO QUANTITATIVE CHARACTERS

The significances of genetic effects as defined by quantitative genetics and by Mendelian genetics are being presented and discussed. A model for computer simulation which separates additive, dominant, epistatic *cis* or *trans* effects is proposed and discussed.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ALLARD R. W., BABBEL G. R., CLEGG M. T., KAHLER A. L., 1972. Evidence of coadaptation in Avena barbata. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, **69** (10), 3043-3048.

CLEGG M. T., ALLARD R. W., KAHLER A. L., 1972. Is the gene the unit of selection? Evidence from two experimental plant populations. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, **69** (9), 2474-2478.

COCKERHAM C. C., 1954. An extension of the concept of partitioning hereditary variance for analysis of covariances among relatives when epistasis is present. *Genetics*, **39**, 859-882.

CROSBY J. L., 1973. *Computer simulation in genetics*. John Wiley and Sons, NewY ork, 477 p.

EDHAIE B., CRESS C. E., 1973. Simulation of cyclic single cross selection. *Theor. appl. Genet.*, **43**, 374-380.

FISHER R. A., 1918. The correlation between relatives on the supposition of Mendelian inheritance. *Trans. Roy. Soc. Edinburgh*, **52**, 399-433.

FRASER A., BURNELL D., 1970. *Computer models in Genetics*. McGRAW-HILL, New York, 206 p.

GALLAIS A., 1970. Covariance entre apparentés quelconques avec linkage et épistasie. I. Expression générale. *Ann. Genet. Sel. anim.* **2**, 281-310.

GALLAIS A., 1974. Covariances between arbitrary relatives with linkage and epistasis in the case of linkage disequilibrium. *Biometrics*, **30**, 429-446.

GALLAIS A., 1975. Prévision de la vigueur et sélection des parents d'une variété synthétique. *Ann. Amelior. Plantes* **25**, 233-259.

GILL J. L., 1965. Effects of finite size on selection advance in simulated genetic populations. *Aust. J. biol. Sci.*, **18**, 599-617.

GRIFFING B., 1956. Concept of General and Specific Combining Ability in relation to diallel crossing systems. *Aust. J. biol. Sci.*, **9**, 463-493.

JANA S., 1972. Simulation of quantitative characters from qualitatively acting genes. I. Non allelic gene interactions involving two or three loci. *Theor. appl. Genet.*, **41**, 216-226, 1971. II. Orthogonal subdivision of hereditary variance in two locus genetic systems. *Theor. appl. Genet.*, **42**, 119-124, 1972.

KEMPTHORNE O., 1957 *a*. The correlation between relatives in random moting populations. *Proc. Roy. Soc. Lond.*, **3**, 143, 103-113.

KEMPTHORNE O., 1957 *b*. *An introduction to Genetic Statistics*. John Wiley and Sons, Ed. New York, 545 p.

MATHER K., JINKS J. L., 1971. *Biometrical Genetics*. Chapman and Hall Ed., London, 376 p.

PANDEY K. K., 1974. Elimination of heterozygosity and efficiency of genetic systems. *Theor. appl. Genet.*, **44**, 199-209.

WRIGHT S., 1935. Deviations from an optimum. *J. Genet.*, **30**, 243-256.

ANNEXE

Présentation de la simulation en génétique

On peut considérer que les zones de stockage et de travail des ordinateurs sont constituées de cases élémentaires ou « bits » pouvant contenir l'information alternative +/— ou 0/1. Ces bits sont regroupés en mot-mémoires, de taille variable suivant le type de la machine, et qui constituent en général l'unité de mémoire et de travail. Sur les ordinateurs Univac de type 1 100 un mot-mémoire est un assemblage linéaire de 36 bits, numéroté de droite à gauche de 0 à 35, dans lequel toute information peut être inscrite en langage binaire, selon un code ou « mode » qui dépend de sa nature.

Par exemple, le mode « entier » permet d'écrire les nombres entiers de $2^{35} - 1$ à $-(2^{35} - 1) \cdot (2^{35} - 1 = 34\,359\,738\,367)$.

Le bit de gauche (n° 35) est le bit de signe, les 35 bits de droite contiennent le nombre écrit en binaire et cadré à droite ; par exemple le nombre + 100 s'écrit :

35	34	----------	8	7	6	5	4	3	2	1	0
0	0	----------	0	0	1	1	0	0	1	0	0

Le mode « réel » permet d'écrire les nombres de 10^{-38} à 10^{+38} avec une précision de 8 chiffres décimaux. Le mot est divisé en 3 parties :
les positions 0-26 contiennent les 27 signes de la mantisse,
les positions 27-34 contiennent les 8 signes de l'exposant,
le bit 39 est le bit de signe.

Ainsi, toute information, chiffrée ou non, peut être enregistrée en utilisant un codage approprié et en regroupant, si besoin est, plusieurs mot-mémoires.

Dans ce même langage sont codées les instructions qui gouvernent les différentes opérations que la machine est capable d'effectuer. Les langages de programmation évolués : Cobol, Fortran, Algol, etc., regroupent sous des noms d'instruction qui sont en clair (américain) l'ensemble des opérations élémentaires nécessaires à l'exécution d'une de ces instructions : Addition (+), racine carrée (SQRT), transfert (GO TO) etc.

Le bit qui est l'unité de travail de l'ordinateur, peut être assimilé par le généticien à un allèle. Ainsi en prenant deux mots mémoires en association, on peut définir une paire de chromosomes ayant 36 loci portant les allèles 0 et 1. En augmentant le nombre de mots mémoires servant à définir un génotype on peut ainsi constituer des individus ayant plusieurs paires chromosomiques de longueur variable.

Toute simulation repose sur la méthode de Monte-Carlo, dont le principe est le suivant :

La situation que l'on veut décrire est analysée et décomposée en événements élémentaires, ou étapes, qui peuvent être déterminées ou aléatoires :

— une étape peut être déterminée : par exemple l'évaluation de la valeur génétique d'un génotype à partir de sa structure génique. Cette valeur dépend

uniquement des allèles présents et de leur arrangement le long du chromosome et quel que soit le nombre de fois où l'on effectue le calcul on aboutit toujours au même résultat,

— une étape peut être aléatoire : par exemple la fabrication d'un gamète à partir d'un parent hétérozygote. Le nombre et l'emplacement des crossing-overs nécessaires à la fabrication des gamètes sont aléatoires mais suivent une loi statistique parfaitement définie, dépendant du taux de linkage.

Pour conditionner chaque étape aléatoire par une probabilité, il faut pouvoir disposer d'un système de tirage de nombres au hasard. Étant donné la très grande quantité de tirages qui est nécessaire, ces nombres sont générés à l'aide de processus pseudo aléatoires ayant une période aussi longue que possible. Il existe des méthodes très variées pour l'obtention de tels nombres où chaque valeur est calculée à partir de la valeur précédente.

La méthode utilisée par le centre de calcul d'Orsay est la suivante :

La valeur $Xn + 1$ se calcule à partir de la valeur Xn par la formule suivante :

$$Xn + 1 = G \cdot Xn \qquad \text{modulo } (2^N)$$

où G : est une constante multiplicative — n'importe quelle puissance de 5 — mais il vaut mieux prendre une puissance aussi élevée que possible compatible avec la taille d'un mot machine (36 bits). En effet, la période de cette série dépend de la grandeur de G. La valeur choisie à Orsay est $G = 5^{13} = 1\,220\,703\,125$ qui est la plus grande puissance impaire de 5 qui peut être contenue dans un mot de 36 bits.

Avec cette valeur, la période de la série pseudo aléatoire est de $2^{34} \simeq 1{,}72 \cdot 10^{10}$. où N : est le nombre de chiffres binaires d'un mot de machine soit 35 dans le cas présent.

L'opération modulo (2^N) est très facile à réaliser : une fonction (AND) réalise le produit bit à bit du nombre obtenu et de 2^N et on conserve les 35 bits de résultat.

Pour débuter la série des nombres pseudo aléatoires, il faut fournir une « amorce » qui constituera le premier terme de la série. Cette amorce peut être choisie de trois façons différentes.

a) Soit on fournit un nombre entier arbitraire parfaitement connu. On a ainsi un tirage reproductible. La même « amorce » génère la même série de nombres pseudo aléatoires.

b) On laisse à la machine le « choix » de « l'amorce ». Celle-ci prend un nombre basé sur la date et l'heure à laquelle cette demande lui est faite. L'inconvénient de cette méthode est que l'on ignore l'amorce qui est fournie et que le tirage n'est pas reproductible.

c) On relève en fin d'exécution de programme la dernière valeur fournie par le processus et on réinjecte cette valeur comme « amorce » pour l'exécution suivante.

On limite la zone de tirage des nombres au hasard (par exemple de 0 à N) en ne considérant, après chaque opération du processus pseudo aléatoire que les k bits de droite du mot mémoire contenant le résultat (tel que 2^k soit le plus petit nombre supérieur à N). Si $N = 100$, le tirage au hasard fournit donc une distribution uniforme de nombres allant de 0 à 99. Considérons un événement qui doit se réaliser avec une probabilité de 25 p. 100 par exemple.

a) On tire un nombre au hasard X entre 0 inclus et 100 exclus.
b) On compare ce nombre à 25.
c) Si $X < 25$ l'événement a lieu
$X \geqslant 25$ l'événement n'a pas lieu.

De cette façon, n'importe quelle densité de probabilité peut être construite. La validité d'un tel système repose essentiellement sur la qualité du tirage pseudo aléatoire : l'étude mathématique du processus présenté ici (étude statistique des doublets, triplets ... de la série) a montré qu'il était tout à fait satisfaisant.

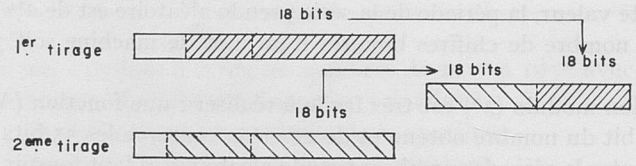
Exemples d'utilisation des nombres pseudo aléatoires

a) *Fabrication de génotypes.*

Cas où les fréquences alléliques sont égales : $p = q = 1/2$.

Il s'agit là d'un cas particulier : tout nombre, ou représentation binaire est représenté par une suite de 0 et de 1 et si ce nombre est tiré au hasard, il en sera de même de son écriture en binaire. Le nombre maximum qui peut être livré est $(2^{35} - 1) > 3 \cdot 10^{10}$. Mais tout nombre tiré n'occupe pas les 36 positions d'un mot mémoire. Il est donc nécessaire de fabriquer chaque chromosome en deux fois :

— On tire deux nombres au hasard compris entre $3 \cdot 10^{10}$ et $2^{18} = 262\,144$ (afin qu'au moins les 18 bits de droite du mot mémoire soient occupés et on transfère leur contenu dans le mot mémoire chromosome).



— Cas où les fréquences alléliques sont quelconques.

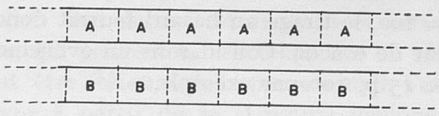
Il est alors nécessaire de remplir les mots mémoire chromosome bit à bit. Par exemple $p\,(1) = 0{,}30$. Pour chaque locus on tire un nombre au hasard entre 0 et 100. Si le nombre est inférieur à 30, l'allèle est 1. Si le nombre est égal ou supérieur à 30, l'allèle vaut 0.

b) *Réalisation de la méiose.*

Sur un chromosome de 36 loci il y a 35 points de rupture. Pour le moment nous n'avons considéré que des taux de linkage homogènes tout au long du chromosome et sans interférence.

— *Cas d'indépendance complète.*

Considérons la gamétogenèse d'un individu hybride $\frac{A}{B}$



Pour chaque locus du gamète fabriqué, on teste la parité d'un nombre tiré au hasard :

— si ce nombre est pair, c'est l'allèle A qui est pris
— si ce nombre est impair, c'est l'allèle B qui est pris.

— *Cas d'un linkage : par exemple 5 centimorgans.*

Cinq gamètes sur 100 en moyenne possèdent un point de cassure et de recombinaison. On tire 5 nombres au hasard compris entre 0 et 3 500. A chaque tirage on a la probabilité 1/100 d'obtenir un nombre entre 0 et 34, c'est-à-dire d'avoir un CO. On approxime ainsi la loi de Poisson de paramètre 0,05 par la loi binomiale de paramètre 5 et 1/100 (tabl. 4).

TABLEAU 4

Nombre de crossing over par gamète pour une longueur de 0,05 Morgan

Nombre de CO	Loi de Poisson	Approximation normale
0	0,951 229	0,950 990
1	0,047 561	0,048 029
2	0,001 189	0,000 970
3	0,000 020	0,000 009
4		
5		
Espérance du nombre de CO	0,049 999	0,049 999

Pratiquement ces opérations sont facilitées en simulation par l'utilisation de « masques » (mots mémoire ne tenant compte que de certains bits) et d'opérateurs logiques bit à bit entre deux mots mémoire : AND, OR et XOR (tabl. 5).

TABLEAU 5

Table des opérateurs logiques AND, OR, XOR

Valeur du bit	1er mot	0	0	1	1
	2e mot	0	0	1	1
Valeur du bit résultat	AND	0	0	0	1
	OR	0	1	1	1
	XOR	0	1	1	0

Ces méthodes sont exposées très en détail dans les ouvrages de FRASER et BURNELL (1970) et de CROSBY (1973) cités en références bibliographiques.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (2), 173-193.

ÉTUDE CRITIQUE DE L'ANALYSE DES CROISEMENTS DIALLÈLES AU MOYEN DE LA SIMULATION

H. FEYT

Laboratoire d'Amélioration des Plantes,
Université Paris Sud, Centre d'Orsay
91405 Orsay

RÉSUMÉ

Une étude critique des méthodes d'analyse des croisements diallèles est réalisée au moyen d'un modèle de simulation traité sur ordinateur. Elle permet de mettre « expérimentalement » en évidence des caractéristiques fondamentales de ces méthodes qui ne peuvent être abordées autrement que par la voie mathématique.

— Les conséquences d'un hétérozygotie résiduelle chez les parents d'un diallèle sont discutées.
— L'extrême manque de précision du modèle de GRIFFING utilisé en aléatoire invite à abandonner ce type d'interprétation.
— Les conséquences de deux hypothèses du modèle de HAYMAN : absence d'épistasie et distribution au hasard des allèles chez les parents sont discutées.

Les croisements diallèles sont très largement utilisés en Amélioration des Plantes. D'une part, le plan de croisement qui leur est associé peut facilement faire partie d'un programme d'hybridation plus large et le dispositif expérimental qu'ils impliquent demeure le plus efficace pour la comparaison des performances des hybrides entre p lignées. D'autre part, ce schéma qui tient compte de toutes les combinaisons que l'on peut réaliser 2 à 2 à partir de p génotypes doit, si on se limite aux possibilités offertes par les croisements non multiples, être potentiellement le plus riche en informations sur le pool génétique formé par les p parents, considérés pour eux-mêmes ou comme échantillon d'une population. Enfin, l'interprétation peut se faire sur la base de plusieurs modèles génétiques qui permettent, au moins théoriquement, une analyse extrêmement fine de l'hérédité du caractère quantitatif étudié.

YATES (1947) a le premier proposé d'interpréter par analyse de variance les

résultats de tous les croisements, avec leurs réciproques, issus de p lignées parentales. GRIFFING (1956 *b*) a généralisé cette méthode aux différents cas de figures possibles : ensemble des F_1 avec les parents, la moitié des F_1 avec ou sans les parents.

Le modèle mathématique sous-jacent décompose la valeur Y_{ij} de l'hybride entre les parents i et j de la manière suivante :

$$Y_{ij} = g_i + g_j + s_{ij}$$

où g_i et g_j sont les demi-effets moyens des parents i et j ;

s_{ij} est un écart à l'additivité de ces effets moyens pour le croisement $i \times j$.

Ce sont très exactement les aptitudes à la combinaison générale et spécifique telles que les ont définies SPRAGUE et TATUM (1942). Si la table diallèle est complète, la décomposition statistique permet en outre de mettre en évidence un effet maternel général et un effet maternel spécifique, s'ils existent.

En faisant l'hypothèse que les génotypes parentaux ont atteint un même coefficient de consanguinité F, les paramètres statistiques σ^2_g = Variance (Aptitude générale à la combinaison) = VAGC et σ^2_s = Variance (Aptitude spécifique à la combinaison) = VASC peuvent être explicités en fonction des paramètres génétiques qui se rapportent à la population de départ GRIFFING (1956 *a*), KEMPTHORNE (1957), DEMARLY (1972).

Le modèle génétique proposé par MATHER (1949) a permis de développer deux types d'analyses d'une table diallèle : HAYMAN (1954 *a*, 1960) propose une interprétation par analyse de variance qui permet d'estimer et de tester la part des effets additifs et des effets dominants dans la variance génétique. HAYMAN (1954 *b*, 1958) développe parallèlement une interprétation graphique mais sur la base d'un modèle plus restrictif. Elle permet en particulier d'apprécier la dominance moyenne du caractère étudié, d'estimer la composition en allèles dominants ou récessifs de chacun des parents. Poursuivie en F_2, elle permet de tester l'existence de multiallélisme, de linkage ou d'épistasie sous certaines conditions.

Quel que soit le modèle d'interprétation retenu, l'expérimentateur peut se placer à deux points de vue au sens d'EISENHART (1947) :

— un point de vue fixe : les performances des génotypes mis en essai sont intéressantes par elles-mêmes : choix de géniteurs, choix des meilleurs hybrides dans le matériel expérimental ;

— un point de vue aléatoire : les génotypes mis en essai ne sont qu'un échantillon représentatif d'une population dont on cherche à estimer les paramètres génétiques.

La réalisation d'un essai diallèle représente toujours, en ce qui concerne les contraintes matérielles, un énorme travail ; à partir de p génotypes il faut fabriquer au moins $\frac{p(p-1)}{2}$ descendances avec des effectifs suffisants pour permettre des essais comparatifs. Une telle manipulation est donc onéreuse en temps, en personnel et en moyens matériels. KEARSEY (1970) et PEDERSON (1971) en comparant différentes méthodes d'estimation des paramètres génétiques d'une population ont montré que le diallèle n'était pas toujours le plus efficace. Cependant, étant donné que ce schéma peut facilement s'intégrer dans un plan de croisement, il demeure très utilisé. Aussi nous le considérons sous trois aspects :

1. Conséquence d'une homozygotie résiduelle des parents pour l'interprétation de GRIFFING en modèle fixe.

2. Recherche du nombre de parents minimum pour obtenir des estimations consistantes des paramètres génétiques σ^2_g et σ^2_s d'une population (d'effectif limité ou illimité).

3. Dans l'interprétation graphique de HAYMAN, que nous considèrerons uniquement en modèle fixe, conséquence du non respect de l'hypothèse : distribution au hasard des allèles chez les parents.

Tous ces problèmes peuvent être abordés, *a priori*, par le calcul : notre premier point étudie l'évolution de la puissance du test des aptitudes à la combinaison en fonction de l'importance de la variance résiduelle ; SCHEFFE (1959) donne la formule permettant de calculer la variance d'un carré moyen et donc de suivre l'évolution de la précision des estimations faites en modèle aléatoire ; enfin HAYMAN (1954 *b*), HILL (1964), NASSAR (1965), COUGHTREY et MATHER (1970) ont déjà discuté les conséquences d'une distribution corrélée des gènes chez les parents d'un diallèle.

Nous allons voir que la simulation permet d'aborder ces mêmes problèmes d'une façon originale qui dans certains cas peut se révéler plus « démonstrative » que le calcul mathématique.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous utilisons le modèle de simulation que nous avons proposé (FEYT, 1976) : chaque individu est porteur d'une paire de chromosomes de 36 loci sur lesquels peuvent intervenir différents dosages des effets génétiques (tabl. 1). Des taux de linkage uniformes, correspondant à des longueurs chromosomiques de 1, 5, 10 centimorgans et à l'indépendance complète des 36 loci ont été envisagés pour l'étude du modèle fixe de GRIFFING. Les génotypes des parents ont été fabriqués par tirage au hasard et sont constitués pour moitié d'allèles 0 et d'allèles 1. Les parents homozygotes sont obtenus par doublement d'une structure chromosomique. Les parents « hétérozygotes » par association de deux structures obtenues indépendamment : de ce fait leur taux d'hétérozygotie moyenne est de 50 p. 100. Une fois tirés, les parents sont stockés sur des tambours magnétiques à lecture rapide afin de pouvoir être utilisés dans des runs indépendants.

Pour l'étude du modèle de CRIFFING nous avons utilisé le mode d'analyse portant sur la moitié des F_1 sans les parents puisque le modèle de simulation ne tient pas compte d'un éventuel effet maternel. Les valeurs des génotypes sont supposées connues exactement. De ce fait, seule une résiduelle d'origine génétique peut intervenir si les parents du diallèle sont hétérozygotes et si l'on distingue les individus issus d'un même croisement (modèle fixe de GRIFFING). Dans les autres cas (modèle aléatoire de GRIFFING, modèle de HAYMAN) les parents sont pris parfaitement homozygotes. Au niveau de l'analyse de variance en modèle aléatoire seul l'effet aptitude générale à la combinaison peut donc être testé ; un effet spécifique étant d'emblée significatif si sa valeur est différente de zéro. L'analyse de variance est résumée par le tableau 2. Les variances des estimations obtenues par le modèle aléatoire ont été calculées à l'aide des formules proposées par SCHEFFE :

$$\text{Variance } (\widehat{\sigma^2_g}) \simeq \frac{2}{(p-1)(p-2)^2} CM^2_g + \frac{4}{p(p-2)^2(p-3)} CM^2_s \qquad (1)$$

$$\text{Variance } (\widehat{\sigma^2_s}) \simeq \frac{4}{p(p-3)} CM^2_s + \frac{2}{r} CM^2_e \qquad (2)$$

Les calculs ont été effectués sur l'ordinateur Univac 1110 du Centre de Calcul de l'Université Paris Sud.

TABLEAU I

Différentes situations génétiques qui interviennent dans cette étude

N° situation	Effets intralocus			Effets interloci		
	Additivité	Dominance	Super-dominance	Épistasie totale	*cis*	*trans*
I	100	0	0	0	0	0
II	0	100	0	0	0	0
III	0	0	100	0	0	0
IV	100	0	0	100	1,0	0
V	100	0	0	100	0,5	0,5
VI	100	0	0	100	0	1,0
VII	0	100	0	100	1,0	0
VIII	0	100	0	100	0,5	0,5
IX	0	100	0	100	0	1,0
X	33	33	34	100	1,0	0
XI	33	33	34	100	0,5	0,5
XII	33	33	34	100	0	1,0

Effets intralocus : est indiquée, en p. 100, la fréquence des loci où intervient chaque type d'effet : ex. : Additivité 100 : tous les loci ont un comportement additif.

Effets interloci : est indiquée, en p. 100, la fréquence des triplets où se manifeste de l'épistasie.

Les deux dernières colonnes indiquent la part des interactions *cis* et *trans* dans ces épistasies (pour plus de détails, voir FEYT, 1976).

TABLEAU 2

Analyse de variance d'un croisement diallèle

(F_1 sans croisement réciproque) (selon GRIFFING, 1956 *b*)

Source	ol	Carrés moyens	Espérance des carrés moyens	
			Modèle fixe	Modèle aléatoire
AGC	$p - 1$	CM_g	$\sigma_e^2 + \frac{(p-2)}{(p-1)} \sum_i g_i^2$	$\sigma_e^2 + \sigma_s^2 + (p-2)\,\sigma_g^2$
ASC	$\frac{p(p-3)}{2}$	CM_s	$\sigma_e^2 + \frac{2}{p(p-3)} \sum_{i<j} s_{ij}^2$	$\sigma_e^2 + \sigma_s^2$
Résiduelle	m	CM_e	σ_e^2	σ_e^2

I. — ANALYSE DE LA VARIANCE : MODÈLE FIXE

Les conclusions du diallèle concernent seulement les performances des génotypes mis en essai. Dans l'hypothèse où les parents sont parfaitement homozygotes, chaque génotype fournit des gamètes identiques et il ne peut y avoir aucune ambiguïté sur la classification des différentes lignées. Au contraire, s'il subsiste une certaine hétérozygotie, la gamétogenèse est une étape aléatoire et les gamètes utilisés dans un diallèle particulier ne formeront qu'un échantillon de la population des gamètes possibles. L'échantillonnage sera d'autant plus exhaustif que le nombre de descendants par croisement est élevé et que le linkage est plus faible, ce qui doit se répercuter sur la puissance des tests F associés à l'analyse et sur l'homogénéité des résultats obtenus dans des expériences indépendantes.

Pour étudier cela, nous avons réalisé en repartant toujours des mêmes génotypes parentaux obtenus par tirage au hasard, des séries de diallèles indépendants pour ce qui concerne le nombre et la localisation des crossing-over qui interviennent à une gamétogenèse ; chaque série est caractérisée par la situation génétique qui lui est appliquée (I à XII) et le taux de linkage.

A titre d'exemple, nous donnons les valeurs observées du test F pour l'aptitude spécifique à la combinaison de 10 répétitions d'un diallèle de taille 10 sous la situation génétique XI. Deux taux de linkage ont été considérés : l'indépendance complète entre loci (taux de recombinaison entre gènes adjacents = 0,5) et une longueur chromosomique de 1 p. 100 (taux de recombinaison entre gènes adjacents $= \frac{0{,}01}{35} \simeq 0{,}00029$). Dans chaque cas, deux niveaux d'effectifs par descendance ont été étudiés : 5 individus par case et 50 individus par case (tabl. 3).

On constate que dans la majorité des cas le test F est significatif (au niveau 5 p. 100) mettant en évidence un effet spécifique au niveau des croisements. Cependant, on observe que la puissance du test est légèrement améliorée par un taux de recombinaison élevé (3 répétitions non significatives pour $r \simeq 0{,}00029$), une seule pour $r = 0{,}5$) et s'accroît considérablement quand on augmente la taille des descendances, paramètre qui peut être, au moins théoriquement, facilement contrôlé par l'expérimentateur.

On peut aboutir aux mêmes conclusions en étudiant les valeurs du coefficient de concordance W de KENDALL (dans SIEGEL, 1956) dans les quatre situations que nous avons présentées (tabl. 4). Ce coefficient W qui correspond à un test non paramétrique, mesure l'homogénéité des classements obtenus dans les 10 répétitions. On observe que les résultats sont d'autant plus concordants d'une répétition à une autre que le taux de linkage est plus faible et les effectifs par croisement plus importants. Ces résultats illustrent l'intérêt que l'on a, en dehors de toute considération sur l'influence du milieu, à travailler avec des descendances d'autant plus nombreuses que l'on n'est pas sûr de l'homozygotie rigoureuse des parents : d'une part, on a ainsi une plus grande probabilité de mettre en évidence un effet peu marqué. D'autre part, au moment du choix des géniteurs ou des combinaisons hybrides, on sera certain de

TABLEAU 3

Valeurs calculées du test F *pour la mise en évidence d'un effet spécifique dans 10 répétitions de diallèles sous 4 hypothèses génétiques*

(modèle fixe de GRIFFING) (Situation génétique XI)

$$F \frac{CM_s}{CM_r}$$

Taux de linkage	1 % CO $r \simeq 0{,}00029$		Indépendance $r = 0{,}50$	
Nombre d'individus par case	5	50	5	50
	1,92	8,94	2,24	17,21
	1,75	8,98	1,20	12,97
	1,44	9,14	2,00	9,73
	1,42	8,99	2,47	11,90
	1,55	8,77	1,72	11,47
	1,43	10,64	1,90	11,72
	2,01	10,11	1,81	12,08
	1,78	10,67	1,59	10,80
	2,38	10,44	2,56	10,18
	1,68	10,31	2,29	13,05
Moyenne	1,79	9,70	1,98	11,71
F limite	1,47	1,42	1,47	1,42

TABLEAU 4

Valeur du coefficient de concordance W *de* KENDALL *qui mesure l'homogénéité des classements obtenus dans les 10 répétitions*

(Situation génétique XI)

Taux de linkage	1 p. 100		Indépendance	
Taux de recombinaison correspondant	$r \simeq 0{,}00029$		$r = 0{,}50$	
Taille des descendances	5	50	5	50
W	0,887	0,963	0,897	0,973
χ^2 observé	79,83	86,67	80,73	87,57
χ^2 limite 5 p. 100	16,9			
χ^2 limite 1 p. 1 000	27,9			

retenir les meilleurs génotypes. Un effectif trop faible peut en effet se traduire par une mauvaise classification qui conduit à retenir des individus bons, mais qui ne sont pas les meilleurs.

II. — ANALYSE DE LA VARIANCE : MODÈLE ALÉATOIRE

L'utilisation d'un modèle aléatoire correspond à deux types de situations qui sont nettement distinctes du point de vue des sélectionneurs.

1. La population dont on cherche à estimer les paramètres σ_g^2 et σ_s^2 au moyen d'un essai diallèle est d'effectif illimité : par exemple, cas d'une espèce nouvelle que l'on veut améliorer. Quelle est la taille minimum de l'expérimentation qui conduise à un degré de confiance satisfaisant dans les estimations ?

2. On dispose d'une population de quelques dizaines d'individus, recueillis lors d'une prospection par exemple. Combien faut-il faire entrer de génotypes dans le diallèle pour obtenir des informations valables sur la collection ainsi constituée.

Nous admettons que les génotypes entrant dans le diallèle sont parfaitement homozygotes et qu'ils dérivent sans sélection de la population de départ. Le premier cas comporte un niveau d'échantillonnage ; le second cas comporte deux niveaux : tirage des individus dans la population de départ pour constituer la collection, puis choix dans cette collection des individus entrant dans le diallèle.

Population d'effectif illimité

La population étudiée est celle des génotypes homozygotes que l'on peut constituer avec 36 loci portant les allèles 0 et 1 (soit $2^{36} \simeq 6{,}872\ 10^9$ possibilités). Nous avons donc réalisé sous différentes hypothèses génétiques (situation X à XII) des diallèles de taille croissante : 5, 10, 20, 50 et 100 à partir d'individus tirés au hasard dans cette population ; mais afin de limiter les variations dues à l'échantillonnage, ces diallèles ont été réalisés de manière emboîtée. Ainsi, un diallèle de taille 10 reprend les parents de deux diallèles de taille 5 ; un diallèle de taille 20 reprend les parents de quatre diallèles de taille 5 ou de 2 diallèles de taille 10, etc.

Pour chaque taille de diallèle on compare les variances des estimations obtenues « expérimentalement » pour σ_g^2 et σ_s^2, aux variances calculées sur la base des résultats du diallèle de taille 100 qui donne les vraies valeurs des paramètres de la population de 100 individus ainsi constituée. Le tableau 5 présente les résultats obtenus dans la situation génétique XI.

On constate une homogénéité satisfaisante entre résultats « calculés » et résultats « observés » : les écarts s'expliquent aisément par le fait que l'échantillonnage des parents par des diallèles de taille 5, 10, 20 et 50 ne comportait pas toutes les combinaisons possibles (par exemple $C_{100}^5 \gg 75 \cdot 10^6$) et que les résultats du diallèle de taille 100 qui servent de base aux valeurs calculées ne sont que des approximations des véritables paramètres σ_g^2 et σ_s^2 de la population.

TABLEAU 5

Variances des estimations de σ_g^2 et σ_s^2 obtenues par des diallèles de taille croissante

Valeurs correspondantes calculées à l'aide des formules de GRIFFING sur la base des estimations obtenues par le diallèle de taille 100 × 100 :

$\widehat{\sigma_g^2} = 30{,}001$

$\widehat{\sigma_s^2} = 36{,}201$

Taille diallèle	5	10	20	50	100
Variance observée $(\widehat{\sigma_s^2})$	346,3	108,9	23,0	13,9	—
Variance observée $(\widehat{\sigma_g^2})$	1 599,4	242,3	171,6	109,0	—
Variance calculée $(\widehat{\sigma_s^2})$	524,2	308,4	15,4	2,2	0,54
Variance calculée $(\widehat{\sigma_g^2})$	943,1	266,1	107,9	38,6	18,6

Comme on s'y attendait, on observe une amélioration considérable de la qualité des estimations des paramètres quand augmente la taille de l'expérience : l'évolution est beaucoup plus rapide pour les aptitudes spécifiques que pour les aptitudes générales : ces dernières sont en effet estimées sur les moyennes des colonnes, soit p résultats pour un diallèle de taille p, alors que les premières sont estimées sur les croisements dont le nombre augmente comme $\frac{p(p-1)}{2}$. Ce gain de précision se retrouve au niveau de la puissance des tests : le tableau 6 présente le nombre d'expériences ayant

TABLEAU 6

Nombre de diallèles (en p. 100) *qui ont conduit à des résultats significatifs pour* σ_g^2

Taille diallèle	Modèle X			Modèle XI			Modèle XII		
	5	10	20	5	10	20	5	10	20
Pourcentage résultats significatifs au niveau									
1 p. 100	25	100	100	10	100	100	15	75	100
5 p. 100	55	100	100	25	100	100	20	70	100

conduit, selon leur taille, à des résultats significatifs pour σ_g^2 : on constate que, au niveau 5 p. 100, les diallèles de taille 5 sont très peu puissants, alors que dès la taille 10, leur puissance peut être considérée comme satisfaisante. Ce tableau met en outre en évidence, la qualité du modèle de simulation utilisé : les situations X à XII ne diffèrent que par le dosage des interactions épistasiques *cis* et *trans* : dans le cas X,

seules les interactions *cis* interviennent : elles sont déterminantes et entraînent avec une très forte probabilité la signification du test pour l'aptitude générale à la combinaison ; quand l'importance relative de ces interactions diminue, la mise en évidence d'un effet général devient plus difficile. C'est bien ce qui est attendu sur la base du contenu en effets génétiques des aptitudes à la combinaison. L'ensemble de ces résultats est résumé par les figures 1 *a*, *b*, *c* à 3 *a*, *b*, *c*.

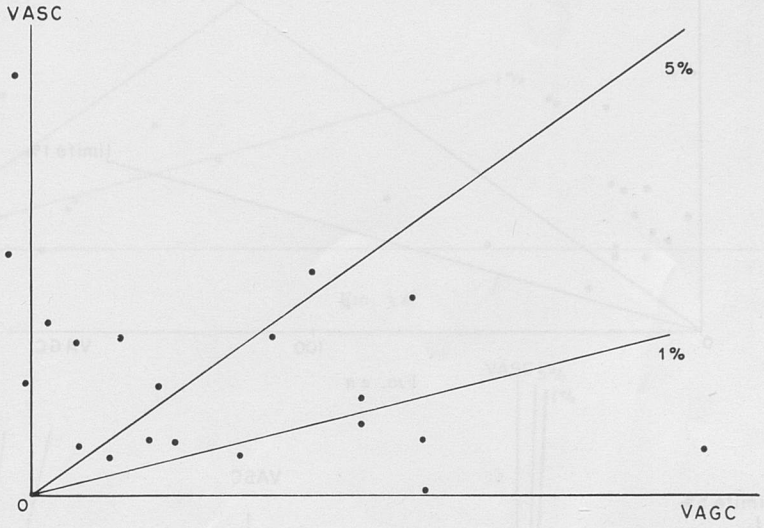


FIG. 1 *a*

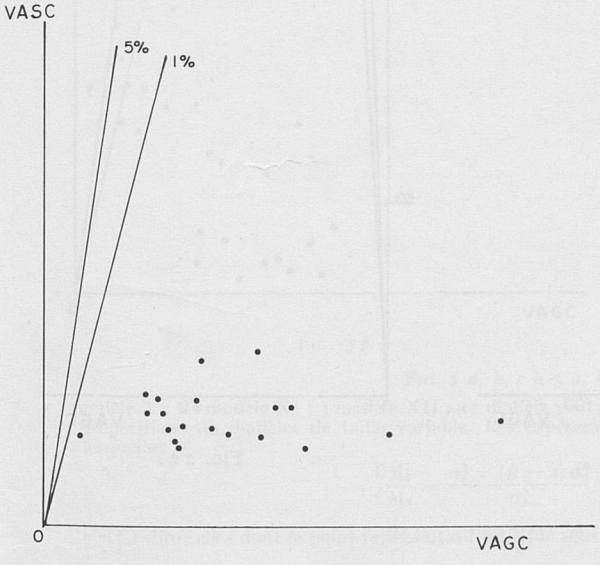


FIG. 1 *b*

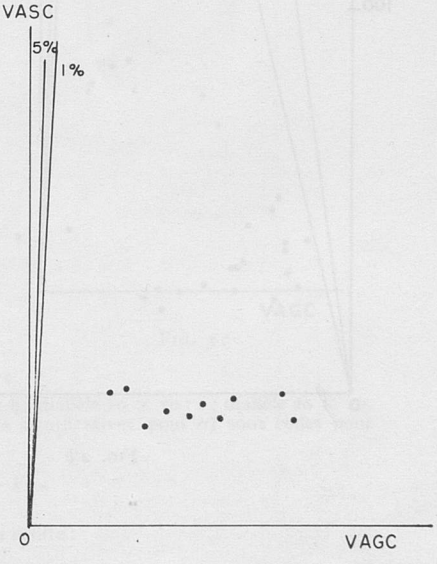


FIG. 1 *c*

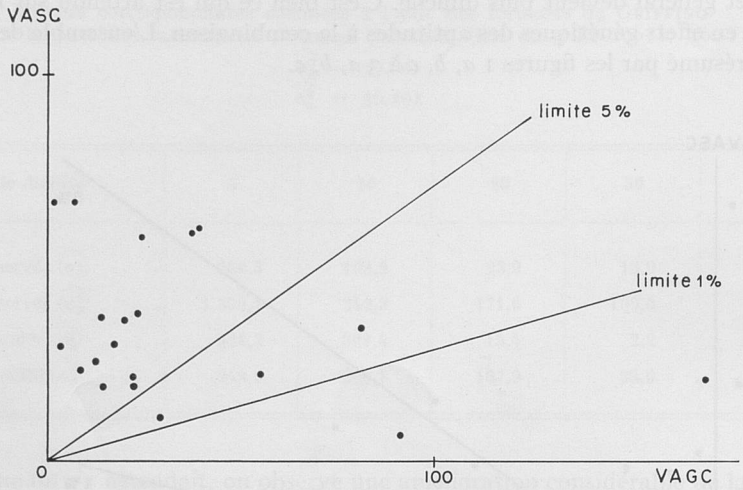


FIG. 2 *a*

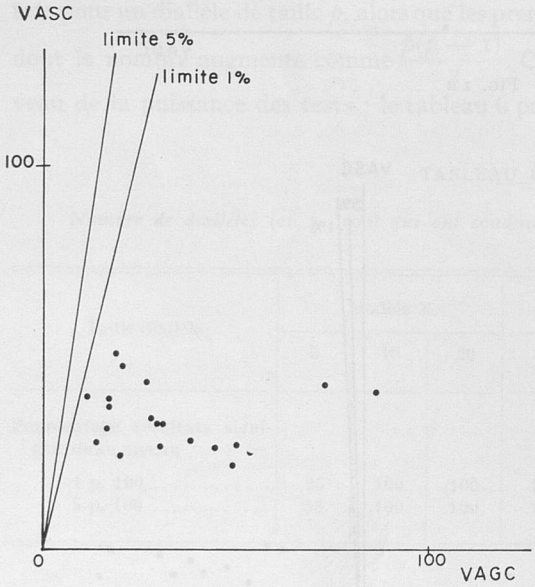


FIG. 2 *b*

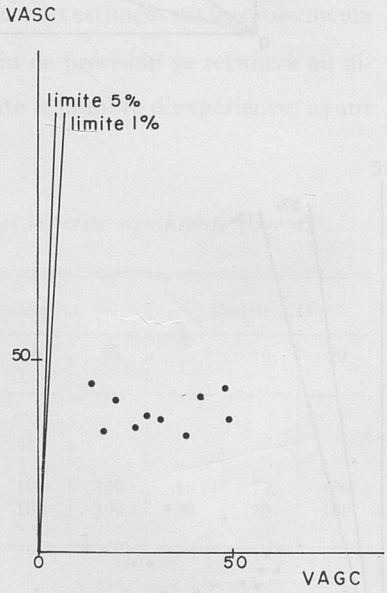


FIG. 2 *c*

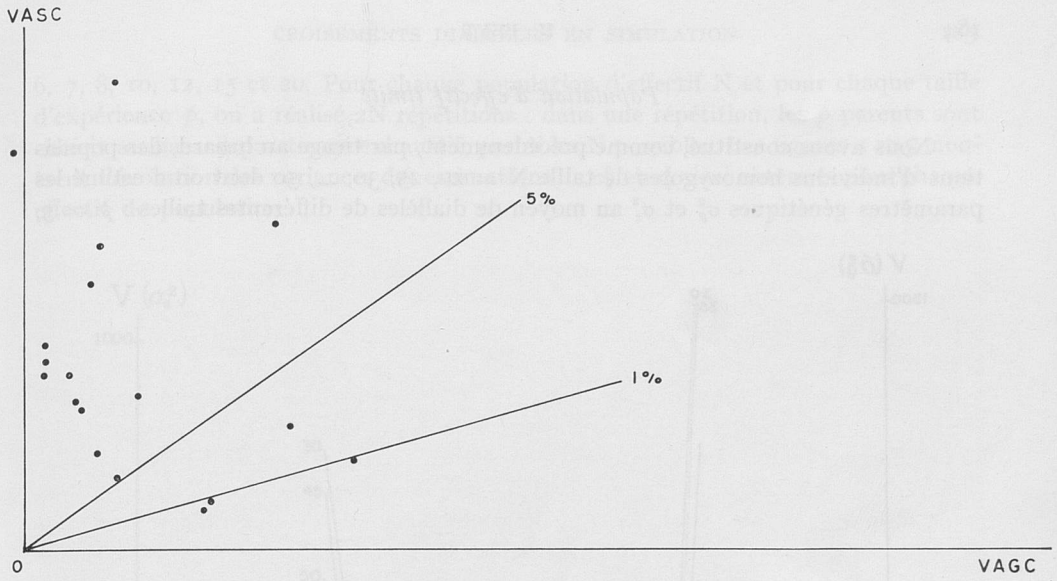


FIG. 3 *a*

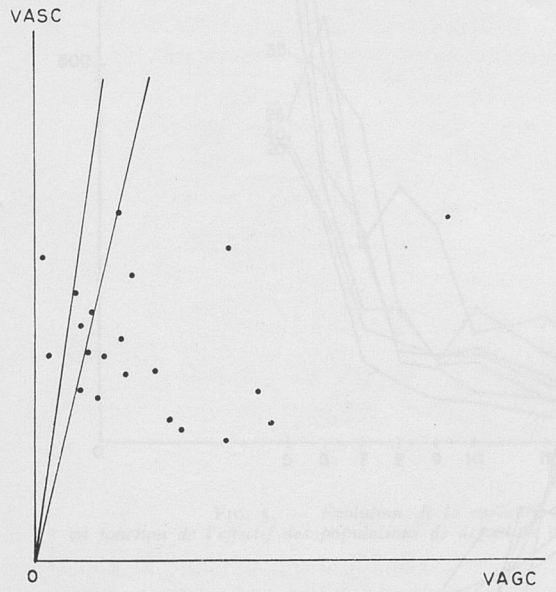


FIG. 3 *b*

FIG. 3 *c*

FIG. 1 *a*, *b*, *c* à 3 *a*, *b*, *c*

1 : modèle X ; 2 : modèle XI ; 3 modèle XII ; *a* : diallèle 5 × 5 ; *b* : diallèle 10 × 10 ; *c* : diallèle 20 × 20. Répétitions de diallèles de taille variable. Les expériences significatives pour σ_g^2 sont celles pour lesquelles :

$$\frac{CM_g}{CM_s} = \frac{\sigma_s^2 + (p-2)\,\sigma_g^2}{\sigma_s^2} \geqslant F_{lim}$$

c'est-à-dire celles dont le point représentatif est situé sous la droite :

$$y = \frac{p-2}{F_{lim} - 1} \times x$$

Population d'effectif limité

Nous avons constitué, comme précédemment, par tirage au hasard, des populations d'individus homozygotes de taille N = 20, 25, 30, ..., 50 dont on a estimé les paramètres génétiques σ_g^2 et σ_s^2 au moyen de diallèles de différentes tailles : p = 5,

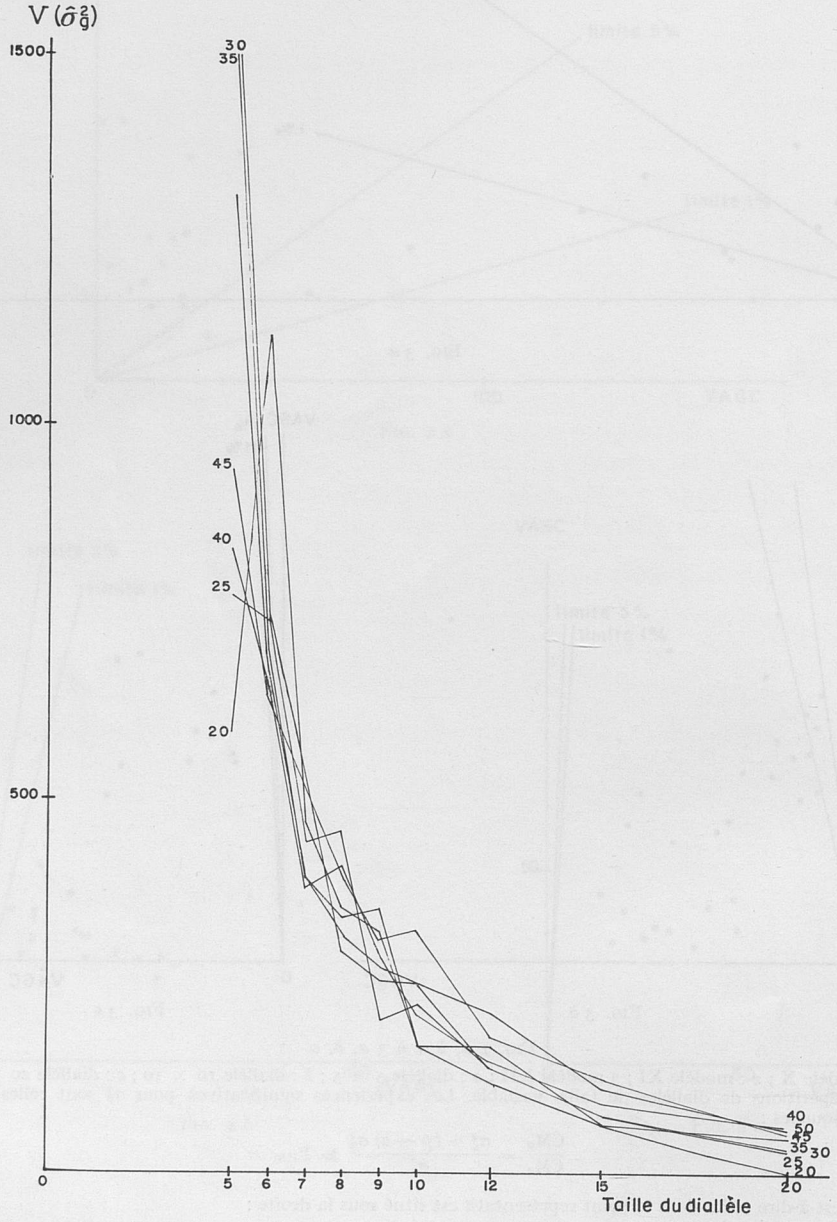


FIG. 4. — *Évolution de la variance de l'estimation de* σ_g^2
en fonction de l'effectif des populations de départ N *et de la taille* p *des diallèles utilisés*

6, 7, 8, 10, 12, 15 et 20. Pour chaque population d'effectif N et pour chaque taille d'expérience p, on a réalisé 2N répétitions : dans une répétition, les p parents sont choisis au hasard par tirage exhaustif, parmi les N possibles. Les figures 4 et 5 montrent l'évolution des variances des estimations de σ_g^2 et σ_s^2 ainsi obtenues pour chaque effectif de population.

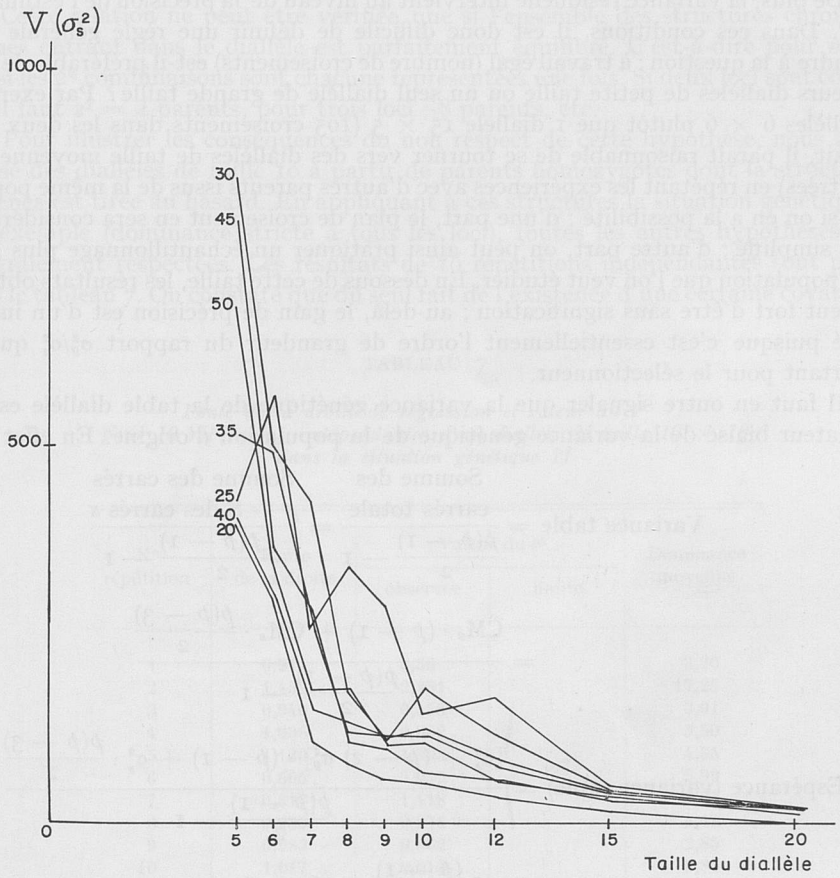


FIG. 5. — *Évolution de la variance de l'estimation de* σ_s^2 *en fonction de l'effectif des populations de départ* N *et de la taille* p *des diallèles utilisés*

On observe la même évolution générale que dans le cas de populations d'effectif illimité : la diminution de la variance des estimations est d'abord très rapide, puis le gain marginal de précision devient très faible à partir des diallèles de taille 8 pour $\widehat{\sigma_s^2}$, de taille 10 à 12 pour $\widehat{\sigma_g^2}$.

On remarque sur ce graphique que la taille de la population ne semble pas avoir d'influence notable sur la variance des estimations : il est donc toujours nécessaire, même pour des collections d'effectif réduit, d'envisager un plan de croisement assez large.

L'estimation de σ_g^2 est de loin la plus imprécise : c'est donc elle qui devrait être déterminante pour la taille de l'expérimentation. Cependant, en remplaçant dans les formules de GRIFFING, les carrés moyens par leur espérance, on constate que les variances des estimations de σ_g^2 et σ_s^2, de même que la puissance des tests correspondants, comme nous l'avons vu plus haut, dépendent des effets génétiques qui sont en jeu : formules (1) et (2).

De plus, la variance résiduelle intervient au niveau de la précision de l'estimation de σ_s^2. Dans ces conditions, il est donc difficile de définir une règle générale pour répondre à la question : à travail égal (nombre de croisements) est-il préférable de faire plusieurs diallèles de petite taille ou un seul diallèle de grande taille ? Par exemple, 7 diallèles 6×6 plutôt que 1 diallèle 15×5 (105 croisements dans les deux cas). En fait, il paraît raisonnable de se tourner vers des diallèles de taille moyenne (8 à 12 entrées) en répétant les expériences avec d'autres parents issus de la même population, si on en a la possibilité : d'une part, le plan de croisement en sera considérablement simplifié ; d'autre part, on peut ainsi pratiquer un échantillonnage plus large de la population que l'on veut étudier. En dessous de cette taille, les résultats obtenus risquent fort d'être sans signification ; au-delà, le gain de précision est d'un intérêt limité puisque c'est essentiellement l'ordre de grandeur du rapport σ_g^2/σ_s^2 qui est important pour le sélectionneur.

Il faut en outre signaler que la variance génétique de la table diallèle est un estimateur biaisé de la variance génétique de la population d'origine. En effet :

$$\text{Variance table} = \frac{\text{Somme des carrés totale}}{\frac{p(p-1)}{2} - 1} = \frac{\text{Somme des carrés } g + \text{S des carrés } s}{\frac{p(p-1)}{2} - 1}$$

$$= \frac{\mathrm{CM}_g \cdot (p-1) + \mathrm{CM}_s \cdot \frac{p(p-3)}{2}}{\frac{p(p-1)}{2} - 1}$$

$$\text{Espérance (variance table)} = \frac{[\sigma_s^2 + (p-2)\,\sigma_g^2] \cdot (p-1) + \sigma_s^2 \cdot \frac{p(p-3)}{2}}{\frac{p(p-1)}{2} - 1}$$

$$= 2\sigma_g^2 \frac{(p-1)}{(p-2)} + \sigma_s^2$$

Ce n'est donc que quand p est grand, c'est à-dire quand toute la population rentre dans le diallèle, que la variance de la table est une bonne mesure de la variance génétique.

III. — ANALYSE GRAPHIQUE DE HAYMAN

Des 6 hypothèses qui sont à la base de l'analyse graphique de HAYMAN, la plus fondamentale, comme le signale KEMPTHORNE (1956), est celle concernant la distribution des allèles chez les parents :

Soient n loci intervenant sur le caractère étudié : 1, 2,..., i,..., j,..., n et p parents rentrant dans le diallèle. Cette hypothèse, qui est nécessaire à un développement simple du calcul mathématique, implique que pour chacun des couples (i, j), chez les p parents on ait :

$$\underset{p}{\text{Cov}}\ (\theta_{ri}, \theta_{rj}) = 0$$

Cette relation ne peut être vérifiée que si l'ensemble des structures chromosomiques entrant dans le diallèle est parfaitement équilibré. C'est-à-dire pour n loci, que si les 2^n combinaisons sont chacune représentées une fois. Si deux loci sont concernés il faut $2^2 = 4$ parents, pour trois loci : 8 parents, etc.

Pour illustrer les conséquences du non respect de cette hypothèse, nous avons réalisé des diallèles de taille 10 à partir de parents homozygotes dont la structure à 36 gènes est tirée au hasard. En appliquant à ces structures la situation génétique II par exemple (dominance stricte à tous les loci), toutes les autres hypothèses sont intégralement respectées. Les résultats de 10 répétitions indépendantes sont portés dans le tableau 7. On constate que du seul fait de l'existence d'une certaine covariance

TABLEAU 7

Pente de la droite de régression et valeur du t^2 pour 10 répétitions indépendantes d'un diallèle de taille 10 × 10 dans la situation génétique II

N° répétition	Pente de la droite	Valeur du t^2 observée	Valeur du t^2 limite	Dominance moyenne
1	0,911	3,30		3,20
2	1,459	2,801		17,25
3	0,940	0,558		3,01
4	1,006	0,002		5,50
5	1,130	1,393	5,32	4,55
6	0,665	7,042		5,99
7	0,817	1,418		4,97
8	0,933	0,276		4,18
9	0,983	0,062		2,85
10	1,017	0,013		5,81

entre les parents, la pente de la droite de régression n'est jamais égale à 1. Bien que les valeurs obtenues s'écartent sensiblement de l'unité, le test proposé par HAYMAN conduit à considérer que les graphiques sont interprétables (au niveau 5 p. 100) sauf pour la répétition n° 6. Ce résultat illustre bien la faible puissance de ce test et les risques qui en découlent :

Dans tous les cas présentés ici, l'analyse conduit à considérer que le caractère étudié est extrêmement super-dominant, ce qui est en complète contradiction avec les effets génétiques que nous avons définis pour cet exemple.

Cette erreur dans l'estimation du degré de dominance due à une covariance entre

allèles chez les parents avait été prévue par HAYMAN (1954). HILL (1964) précise que l'association des gènes entraîne une sous-estimation de la dominance, leur dispersion une surestimation de ce paramètre. Mais selon COUGHTREY et MATHER (1970) ce biais devrait s'atténuer quand le nombre de loci concernés augmente.

Il semble au contraire que c'est en augmentant le nombre de parents que le terme covariance et le biais qui en résulte peuvent être minimisés.

Ainsi, deux diallèles 100 × 100, réalisés indépendamment (parents différents) mais sous les mêmes hypothèses génétiques aboutissent à des résultats pratiquement identiques et qualitativement correctes : pente de la droite égale à 0,960 et 0,973 ; degré de dominance estimé : 1,28 et 1,44.

Ces résultats montrent en outre combien il serait dangereux d'utiliser la méthode de HAYMAN en se plaçant à un point de vue aléatoire.

Il est bien évident que dans les conditions expérimentales il est impossible d'étudier les conséquences du non-respect des autres hypothèses, celle-ci étant levée.

Par contre, il est aisé de respecter cette condition avec le modèle de simulation : en considérant une structure chromosomique à 6 loci, nous avons constitué une population de $2^2 = 64$ parents homozygotes représentant chacun une des structures possibles (tabl. 8), à partir desquels nous avons réalisé des diallèles 64 × 64 sous diverses hypothèses génétiques (I à IX). Les résultats obtenus sont résumés par les figures 6 *a*,..., *f*.

TABLEAU 8

Constitution d'une population de 64 parents telle que :
Cov (θ_{ri}, θ_{rj}) = 0

N° du parent	Génotype	Interprétation en binaire
1	0 0 0 0 0 0	0
2	0 0 0 0 0 1	1
3	0 0 0 0 1 0	2
4	0 0 0 0 1 1	3
—		
—		
—		
63	1 1 1 1 1 0	
64	1 1 1 1 1 1	63

En présence d'effets purement additifs, tous les points représentatifs des parents sont confondus au point de tangence à la parabole d'une droite de pente 1 ; ce cas n'est donc pas représenté. En présence d'interactions purement intralocus, tous les points sont alignés sur une droite de pente 1 dont la position indique bien le niveau de dominance (6 *a*, 6 *b*). L'introduction d'effets épistatiques de type *cis*, s'il n'y a pas d'interaction intralocus, perturbe assez peu le graphique : la pente de la droite de régression reste égale à 1 et sa position dénote un léger effet de dominance. Comme les parents sont parfaitement homozygotes, l'épistasie *cis* tend à se confondre avec les

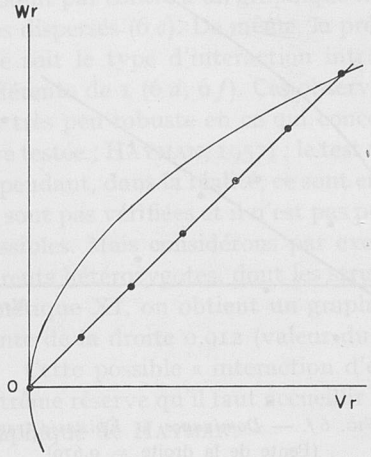


FIG. 6 *a*. — *Dominance*
(Pente de la droite = 1,00)

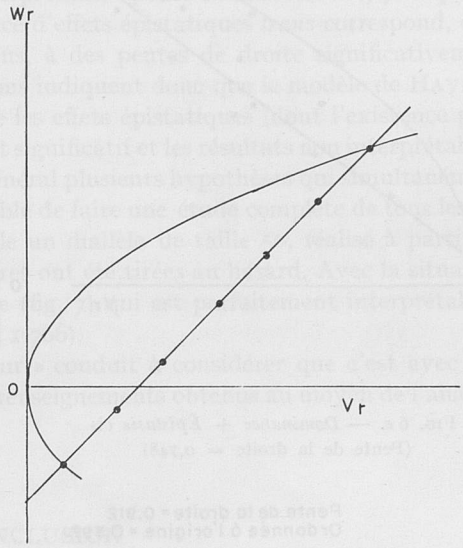


FIG. 6 *b*. — *Superdominance*
(Pente de la droite = 1,00)

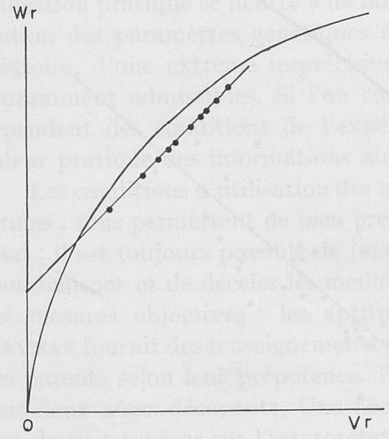


FIG. 6 *c*. — *Additivité + Épistasis* cis
(Pente de la droite = 1,00)

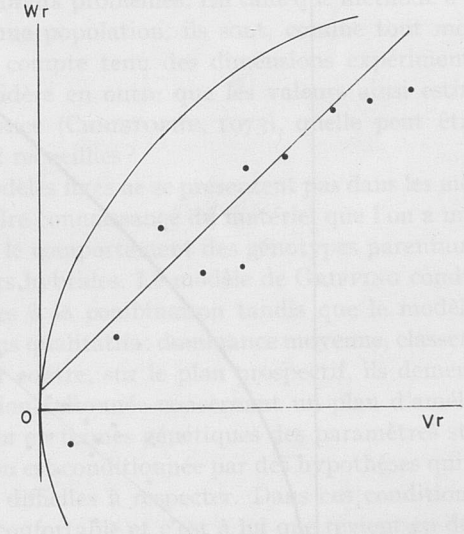


FIG. 6 *d*. — *Additivité + Épistasie* trans
(Pente de la droite = 0,945)

FIG. 6 *a* à *f*. — *Graphique de* HAYMAN *en* (Vr, Wr) *pour des diallèles entre parents présentant une covariance nulle sous diverses hypothèses génétiques*
(Modèles II, III, IV, VI, VII et IX)

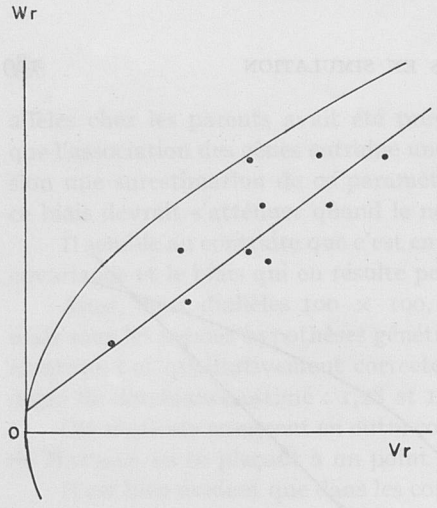


FIG. 6 *e*. — *Dominance* + *Épistasie* cis
(Pente de la droite = 0,748)

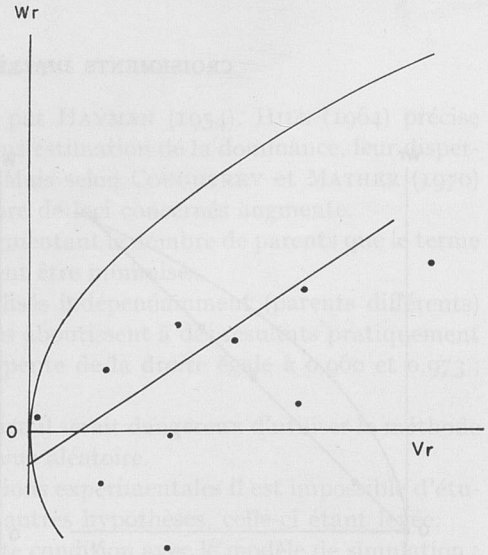


FIG. 6 *f*. — *Dominance* + *Épistasie* trans
(Pente de la droite = 0,679)

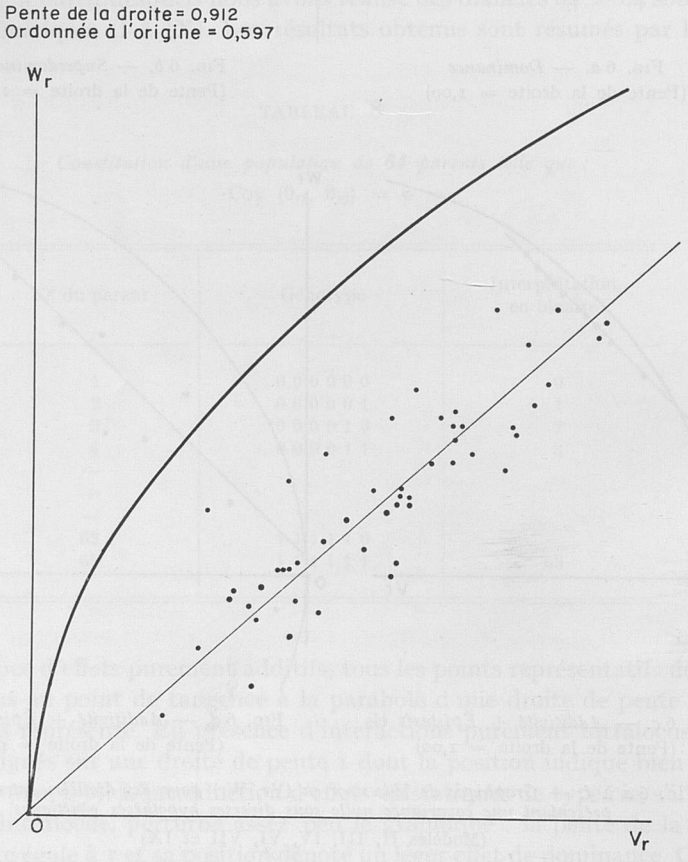


FIG. 7. — *Diallèle ne vérifiant pas simultanément 3 hypothèses :*
- hétérozygotie des parents ;
- distribution non indépendante des gènes ;
- présence d'épistasie.

effets additifs (6 *c*). L'introduction d'épistasie *cis* en présence d'effets de dominance conduit par contre à un graphique ininterprétable : pente de la droite : 0,748 et points très dispersés (6 *e*). De même, la présence d'effets épistatiques *trans* correspond, quel que soit le type d'interaction intralocus, à des pentes de droite significativement différente de 1 (6 *d*, 6 *f*). Ces observations indiquent donc que le modèle de HAYMAN est très peu robuste en ce qui concerne les effets épistatiques (dont l'existence peut être testée ; HAYMAN, 1957) ; le test t^2 est significatif et les résultats non interprétables. Cependant, dans la réalité, ce sont en général plusieurs hypothèses qui simultanément ne sont pas vérifiées et il n'est pas possible de faire une étude complète de tous les cas possibles. Mais considérons par exemple un diallèle de taille 50, réalisé à partir de parents hétérozygotes, dont les structures ont été tirées au hasard. Avec la situation génétique XI, on obtient un graphique (fig. 7) qui est parfaitement interprétable : pente de la droite 0,912 (valeur du t^2 : 1,766).

Cette possible « interaction d'erreur » conduit à considérer que c'est avec une extrême réserve qu'il faut accueillir les renseignements obtenus au moyen de l'analyse graphique de HAYMAN.

CONCLUSION

Nous venons de retrouver au moyen de la simulation, des résultats importants concernant différents modèles d'analyse diallèle qui mettent en évidence que leur utilisation pratique se heurte à de nombreux problèmes. En tant que méthode d'estimation des paramètres génétiques d'une population, ils sont, comme tout modèle aléatoire, d'une extrême imprécision, compte tenu des dimensions expérimentales couramment admissibles. Si l'on considère en outre que les valeurs ainsi estimées dépendent des conditions de l'expérience (CHRISTOPHE, 1973), quelle peut être la valeur pratique des informations ainsi recueillies ?

Les conditions d'utilisation des modèles fixes ne se présentent pas dans les mêmes termes : tous permettent de bien prendre connaissance du matériel que l'on a mis en essai : il est toujours possible de juger le comportement des génotypes parentaux en combinaisons et de déceler les meilleurs hybrides. Le modèle de GRIFFING conduit à des mesures objectives : les aptitudes à la combinaison tandis que le modèle de HAYMAN fournit des renseignements plus qualitatifs : dominance moyenne, classement des parents selon leur prépotence. Par contre, sur le plan prospectif, ils demeurent tous deux assez décevants. Une décision raisonnée concernant un plan d'amélioration devrait reposer sur l'interprétation en termes génétiques des paramètres statistiques. Or la validité de cette traduction est conditionnée par des hypothèses qui sont soit incontrôlables, soit extrêmement difficiles à respecter. Dans ces conditions, la situation du sélectionneur est assez inconfortable et c'est à lui que revient en définitive la décision finale.

L'étude par simulation de quelques problèmes posés par l'interprétation des croisements diallèles permet d'expliciter les types de services que l'on peut attendre de cette technique.

— La simulation présente l'avantage d'être plus concrète qu'un modèle mathématique : pour parvenir à une réponse il est nécessaire de manipuler des génotypes

qui, bien que virtuels, peuvent être individualisés, croisés, associés à des valeurs de performance, etc. De ce fait elle constitue un outil commode pour familiariser le sélectionneur ou l'étudiant avec les concepts couramment manipulés en génétique quantitative.

— La simulation est en outre une technique suffisamment souple pour s'adapter à des problèmes complexes dans lesquels interviennent un trop grand nombre de paramètres pour pouvoir être abordés de front par les mathématiques ou le calcul numérique. Souvent la simulation permet, au prix il est vrai d'un temps de calcul supplémentaire, de surmonter ces difficultés.

Ces deux qualités en font un instrument de recherche particulièrement adapté aux préoccupations du sélectionneur : mise au point de systèmes de croisements, études d'évolution de populations, comparaison des efficacités à long terme de plusieurs méthodes de sélection, etc. et qui mériterait de ce fait d'être développé.

Reçu pour publication en mars 1975.

SUMMARY

A CRITICAL STUDY OF DIALLEL METHODS BY COMPUTER SIMULATION

A critical study of methods of analysis of the diallel tables is realized by means of a computer model simulation. This permits one to gain « experimental » evidence for basic properties of these methods which can be otherwise studied only by mathematics.

— The consequences of a residual heterozygosity of the parents of a diallel experiment are discussed.
— The extreme lack of precision of GRIFFING's method involving random samples should lead to the abandonment of this type of analysis.
— The consequences of two hypothesis of HAYMAN's method : lack of epistasis and independant distribution of genes between the parents are discussed.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

COUGHTREY A., MATHER K., 1970. Interaction and gene association and dispersion in diallel crosses where gene frequencies are unequal. *Heredity*, **25**, 79-88.

CHRISTOPHE C., 1973. Action de la densité de plantation sur des paramètres génétiques de la Luzerne. *Ann. Amélior. Plantes*, **23** (1), 67-76.

DEMARLY Y., 1972. Commentaires sur les aptitudes à la combinaison. *Ann. Amélior. Plantes*, **22** (2), 187-200.

EISENHART C., 1947. The assumptions underlying the analysis of variance. *Biometrics*, **3**, 1-21.

FEYT H., 1976. Proposition d'un modèle de simulation appliqué à la génétique des effets quantitatifs. *Ann. Amélior. Plantes*, **26** (2), 157-171.

GRIFFING B., 1956 *a*. A generalised treatment of the use of diallel crosses in quantitative inheritance. *Heredity*, **10**, 31-50.

GRIFFING B., 1956 *b*. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Aust. J. biol. Sci.*, **9**, 463-493.

HAYMAN B. I., 1954 *a*. The analysis of variance of diallel tables. *Biometrics*, **10**, 234-244.

HAYMAN B. I., 1954 *b*. The theory and analysis of diallel crosses. *Genetics*, **41**, 65-78.

HAYMAN B. I., 1957. Interaction, heterosis and diallel crosses. *Genetics*, **42**, 336-355.

HAYMAN B. I., 1958. The theory and analysis of diallel crosses (II). *Genetics*, **43**, 63-85.

HAYMAN B. I., 1960. The theory and analysis of diallel crosses (III). *Genetics*, **45**, 155-172.

HILL J., 1964. Effects of correlated gene distributions in the analysis of diallel crosses. *Heredity*, **19**, 27-46.

KEARSEY M. J., 1970. Experimental sizes for detecting dominance variation. *Heredity*, **25**, 529-542.

KEMPTHORNE O., 1956. The theory of the diallel cross. *Genetics*, **41**, 451-459.

KEMPTHORNE O., 1957. *An introduction to genetic statistics*. John Wiley and Sons. Ed. New York, 545 p.

MATHER K., 1949. *Biometrical genetics*. Methuen and Co. Ed. London, 162 p.

NASSAR R. F., 1965. Effect of correlated gene distribution due to sampling on the diallel analysis. *Genetics*, **52**, 9-20.

PEDERSON P. G., 1971. Estimation of heritability and degree of dominance from a diallel cross. *Heredity*, **27**, 247-264.

SCHEFFE H., 1959. *The analysis of variance*. John Wiley and Sons Ed. New York.

SIEGEL S., 1956. *Non parametric statistics for the behavorial sciences*. McGraw-Hill Koga kusha Ltd. ed.

SPRAGUE G. F., TATUM L. A., 1942. General versus specific Combining ability in single crosses of corn. *J. Amer. Soc. Agron.*, **34**, 923-932.

YATES F., 1947. Analysis of data from all possible reciprocal crosses between a set of parental lines. *Heredity*, **1**, 287-301.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (2), 195-213.

INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE, DE LA VALEUR DE L'ÉCLAIREMENT ET DE LA PHOTOPÉRIODE SUR LE DÉVELOPPEMENT FLORAL DE QUATRE GÉNOTYPES DE MAÏS

F. BLONDON et A. GALLAIS*
avec la collaboration technique de J. DURAND

Laboratoire du Phytotron, C. N. R. S.,
91190 Gif-sur-Yvette
** Station d'Amélioration des plantes fourragères, I. N. R. A.,*
86600 Lusignan

RÉSUMÉ

Les effets de la température, de la valeur de l'éclairement et de la photopériode sur le développement floral (sortie de la panicule, émission de pollen et sortie des stigmates) en rapport avec la croissance de deux lignées et de deux hybrides précoces ou tardifs de Maïs sont étudiés en phytotron. L'effet de basses températures pendant la germination est aussi abordé.

Les résultats permettent de vérifier que le Maïs est une plante de jours courts préférante. Les conditions les plus favorables à la croissance ne coïncident pas avec celles qui permettent le développement floral le plus rapide et le meilleur. Pour ce développement les conditions optimales, parmi celles étudiées, sont : température de 17°C et éclairement de forte valeur (30 000 lux) sous une photopériode de 9 h.

Les génotypes tardifs sont plus exigeants pour ces facteurs que les génotypes précoces et une faible vigueur souligne ces exigences. La floraison femelle est plus exigeante que la floraison mâle. Ces conclusions sont confirmées par l'effet de basses températures appliquées au cours de la germination : elles accélèrent la floraison femelle du matériel tardif, mais seulement en jours courts (9 h) et avec une température pas trop élevée.

Un essai d'interprétation des exigences, pour la floraison, en température fraîche, valeur d'éclairement et photopériode est proposé. Ces exigences semblent montrer des besoins en induction primaire.

INTRODUCTION

Le Maïs est considéré classiquement comme une plante de jours courts préférante (MESSIAEN, 1963). Cependant il existe une grande variation dans la vitesse de mise à fleurs de différents génotypes. L'explication physiologique de ces variations serait importante à connaître pour les sélectionneurs de Maïs. Elle leur permettrait d'une part une sélection plus précise pour la précocité et d'autre part une meilleure utilisation des moyens pour la culture en conditions artificielles.

De nombreux auteurs ont mis en évidence le rôle de la photopériode dans le développement floral du Maïs. Ainsi SCHAFFNER (1927, 1930) montre que les photopériodes très courtes provoquent une accélération du développement et BECKER (1954) signale un retard dans la floraison de certaines variétés américaines sous l'influence des jours longs estivaux en Hollande. De même RAGLAND *et al.* (1966) constatent une sortie plus tardive de la panicule de Maïs tropicaux cultivés sous 16 h d'éclairement par rapport à 12 h. Cependant le problème est complexe, car dès 1934, SPRAGUE n'observe pas ces différences pour tous les hybrides qu'il étudie et souligne que *la réponse varie avec le génotype*. Cette idée est confirmée plus tard par GALINAT et NAYLOR (1951) qui montrent qu'un mutant de l'hybride C_{31} présente un retard à l'épiaison en 9 h par rapport à 16 h ; ce retard par contre ne se manifeste pas chez l'hybride normal. Par ailleurs FRANCIS (1973) caractérise deux types de génotypes tropicaux, les uns sensibles, les autres insensibles à la photopériode.

D'autres auteurs ont étudié le rôle de la température. Ainsi MIKULA et TROWBRIDGE (1968) montrent que l'hybride W 22 initie son inflorescence au 29e jour à 22°C en 12 h mais non en 8 h ou 16 h ; aux températures de 26°C (jour) et 16°C (nuit), l'initiation se fait en 8 h ou 12 h mais pas en 16 h. Pour ARNOLD (1969, 1974) le stade critique d'action de la température se situerait entre 4 et 9 feuilles et cet auteur propose une méthode pratique de prévision.

PALMER (1973) en utilisant des semis échelonnés effectués en divers lieux du Mexique met en évidence sur 7 génotypes une interaction entre la photopériode et la température mais sans pouvoir la préciser. Dans une expérience de HUNTER *et al.* (1974) c'est un génotype précoce qui est apparu insensible à la photopériode, par contre les 3 autres génotypes plus tardifs sont assez affectés par les variations de photopériode et de température. Une photopériode longue (20 h) ralentit le développement, surtout à la température de 20°C, la plus faible des températures étudiées.

Ces diverses études et celles de BROUWER *et al.* (1973), COLIGADO et BROWN (1975) montrent très souvent un effet défavorable des photopériodes longues sur la vitesse de mise à fleurs, avec une variation suivant les génotypes. Mais cette variation reste assez inexpliquée. Elle reflète sans doute les effets de différents facteurs de l'environnement. De plus ces études ne considèrent pas les critères de la qualité du développement : fertilité mâle, présence d'épis, décalage entre la floraison mâle et la floraison femelle. Or cette qualité du développement est souvent défectueuse en conditions artificielles de serre d'hiver, où la valeur d'éclairement naturel est assez faible. La présente étude a donc pour but de contribuer à préciser l'effet de différents facteurs du milieu (température, photopériode, valeur de l'éclairement) sur la rapidité et la qualité du développement de quelques génotypes de Maïs. L'effet d'une basse température pendant la germination a aussi été étudié.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

A. — Le matière végétal

Pour préciser les interactions des facteurs du milieu avec les génotypes, il serait nécessaire, d'expérimenter sur un assez grand nombre de génotypes. Dans cette première approche du problème, compte tenu des possibilités d'expérimentation au Phytotron, nous avons choisi de faire

varier la vigueur et la précocité sur un nombre restreint de génotypes : une lignée précoce (LP), une lignée tardive (LT), un hybride précoce (HP), un hybride tardif (HT). LP est la lignée F_7 d'origine française de type corné ; HP est l'hybride français corné × corné $F_7 \times F_2$; LT est une lignée dentée d'origine américaine et HT est un hybride expérimental corné × denté du groupe IV. Le tableau 1 montre les dates de floraison femelle de ce matériel utilisé en 1972 à la Station d'Amélioration des Plantes fourragères de Lusignan.

L'effet vigueur génétique (hétérosis) a été introduit car les lignées sont en général plus exigeantes que les hybrides pour leur croissance et leur développement vis-à-vis des conditions du milieu ; un hybride par sa vigueur a une certaine homéostase qui lui permet de bien se développer même en conditions limitantes.

TABLEAU I

Date de floraison femelle du matériel expérimental, en 1972, à la Station d'Amélioration des Plantes fourragères de Lusignan (1)

Matériel	LP	HP	LT	HT
Date de floraison	31-7	25-7	3-9	27-8

(1) Date de semis au champ : le 11 mai 1972.

B. — *Conditions expérimentales*

Toutes les études ont été réalisées au Phytotron du C. N. R. S. de Gif-sur-Yvette dans deux types de salles. Les unes dans lesquelles l'éclairage est naturel mais la photopériode maîtrisée (9 ou 16 h), les autres en éclairage entièrement artificiel

(18 000 lux, 115 000 ergs $\cdot$ cm^{-2} $\cdot$ s^{-1}).

Ces installations permettent l'étude des effets de la température, de la photopériode et de la valeur de l'éclairement (Éclairement naturel faible en automne et hiver ; éclairement moyen et constant ; éclairement naturel fort au printemps et en été).

Dans les salles à éclairage naturel un complément de lumière artificiel (incandescente et fluorescente) est fourni par des ballons Osram de 250 W (environ 1 500 lux au niveau des plantes). Pour toutes les expériences l'humidité relative de l'air est de 70 p. 100. Les plantes sont cultivées individuellement en pots contenant comme support de la vermiculite et de la laine de verre. Ceux-ci sont arrosés quotidiennement par une solution nutritive de composition constante (Blondon, 1968). Il y a 4 plantes par chariot (0,25 m^2).

Les conditions expérimentales réalisées sont classées par expérience.

Les plantes sont placées en expérience dès le semis par lot de 5 à 6 plantes.

— Expérience n° 1 : Salles à *éclairage naturel*. Semis du 5-3-73 donc forte intensité lumineuse naturelle au cours de l'expérience (moyenne d'environ 30 000 lux) — 2 photopériodes 9 ou 16 h d'éclairement — 2 températures constantes 22°C ou 17°C.

— Expérience n° 2 : Salles à *éclairage naturel* dans les mêmes conditions de température et de photopériode que l'expérience 1, mais avec semis du 9-11-73, ce qui correspond à une faible valeur d'éclairement au cours de l'expérience (8 000 lux).

— Expérience n° 3 : Salles à *éclairage artificiel* (18 000 lux), une température alternée 27°C (durant 9 h) 17°C (durant 15 h), 3 photopériodes (9,16 ou 24 h). Semis du 17-8-73.

— Expérience n° 4 : Répétition de l'expérience précédente. Semis du 11-12-73.

— Expérience n° 5 : Salles à *éclairage naturel*, semis du 13-3-74 avec *2 modes de germination* : l'un (témoin) à la température de la culture (22°C), l'autre à 5°C pendant 20 jours sous une photopériode de 16 h. Les plantes ainsi traitées ont été ensuite réparties dans 2 salles à 22°C, l'une en 9 h, l'autre en 16 h d'éclairement.

— Expérience n° 6 : Salles à *éclairage artificiel*, culture comme dans l'expérience n° 3, avec les 2 modes de germination ci-dessus et 2 photopériodes 9 h ou 16 h.

C. — *Les caractères étudiés*

Deux types de caractères sont étudiés, les uns liés directement à la floraison (développement floral) : temps nécessaires à la sortie de la panicule, à l'émission de pollen, à la sortie des stigmates ; les autres en rapport avec la morphologie de la plante (croissance) : hauteur de la plante, diamètre de la tige, ramification de la panicule, nombre total de feuilles. Les premiers types de caractères sont mesurés par la médiane de réalisation et les seconds, plus quantitatifs, par la moyenne de 5 à 6 plantes.

Ces deux types de caractères nous serviront à analyser les expériences en insistant sur deux critères essentiels : la vitesse et la qualité du développement floral. La vitesse du développement floral est mesurée par les nombres de jours nécessaires depuis le semis à la sortie de la panicule, à l'émission de pollen ou à la sortie des soies. La qualité est appréciée par le sens et l'importance du décalage entre l'émission de pollen et la sortie des soies. En effet ce décalage doit être le plus faible possible pour permettre la réalisation de l'autofécondation. L'analyse statistique des résultats est très difficile pour les caractères liés à la qualité du développement du fait des phénomènes de stérilité (mâle ou femelle) observés dans certaines conditions. Aussi avons-nous fait porter l'analyse statistique uniquement sur le caractère « sortie de la panicule » au niveau des expériences en lumière naturelle (tabl. 3) qui permet l'étude de plusieurs interactions. Pour les autres caractères et expériences, nous nous limiterons à une interprétation qualitative en nous basant sur l'ampleur des effets observés. En effet la comparaison des résultats de l'expérience 1 à 22°C et du témoin de l'expérience 5 d'une part, et de ceux des expériences 3, 4 et du témoin de l'expérience 6 d'autre part, montre une très bonne reproductibilité pour le critère sortie de la panicule et pour l'émission de pollen lorsque celle-ci est observable. Par contre le critère sortie des stigmates semble plus affecté par le milieu. Le tableau 2 montre les coefficients de corrélation entre les 2 répétitions des deux types d'expériences, en lumière naturelle ou en lumière artificielle.

TABLEAU 2

Coefficients de corrélation entre répétitions de certaines expériences

Comparaison	Expérience 1 avec témoin expérience 5	Expériences 3 et 4 (1) avec témoin expérience 6
Sortie panicule	0,84**	0,99**
Émission de pollen	0,95**	0,90**
Sortie des stigmates	0,77*	0,71*

Les signes * et ** représentent la signification statistique des coefficients respectivement au seuil 0,05 et 0,01.

(1) Moyenne des expériences 3 et 4.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

Les résultats correspondant à une germination à température moyenne (17°C ou 22°C) seront d'abord examinés. Le critère considéré comme caractéristique de la rapidité du développement est le temps nécessaire depuis le semis à la sortie de la panicule mâle. L'émission de pollen et la sortie des stigmates sont considérées comme des critères de qualité du développement floral. Dans les tableaux 3 et 5 figurent les résultats obtenus dans les différentes conditions pour les caractères de développement floral. Le tableau 4 donne l'analyse de variance combinée des expériences 1 et 2.

Les résultats concernant l'effet d'une basse température pendant la germination sont donnés à titre préliminaire. Une expérimentation est poursuivie sur ce problème. Dans ce cas, compte tenu des 2 modes de germination, seuls les critères de qualité de floraison seront considérés.

I. — Rapidité du développement floral

A. — *Facteurs du milieu*

1. *Facteurs principaux.*

a) *Effet de la valeur de l'éclairement.*

La comparaison des expériences 1 et 2 (tabl. 3) réalisées avec des valeurs d'éclairement très différentes met en évidence un effet très important de la valeur de l'éclairement. Pour une température et une photopériode déterminées il existe une différence de 25 à 30 jours pour la sortie de la panicule suivant les valeurs d'éclairement. Les fortes valeurs d'éclairement provoquent le développement floral le plus rapide. Les résultats obtenus avec une valeur d'éclairement constante de 18 000 lux (salles à éclairage artificiel ; tabl. 5) montrent que l'action de cet éclairement est beaucoup plus proche de celle d'un éclairement naturel de printemps et d'été.

b) *Effet de la température.*

Quelles que soient la valeur de l'éclairement et la photopériode, la culture effectuée continuellement à 22°C permet une sortie plus rapide de la panicule en avance de 25 à 30 jours sur celle obtenue à 17°C.

c) *Effet de la photopériode.*

Une photopériode de 9 h provoque un développement floral légèrement plus rapide qu'une photopériode de 16 h (fig. 1 à 4). Cependant cet effet se manifeste surtout sous un faible éclairement et à une température de 17°C. L'avance est alors de l'ordre de 10 à 15 jours. Les expériences sous 18 000 lux à la température de 27-17°C (tabl. 5) montrent qu'une photopériode de 24 h provoque les mêmes résultats qu'une photopériode de 9 h en diminuant de 5 à 10 jours le temps nécessaire à la sortie de la panicule en photopériode de 16 h.

TABLEAU 3

Nombre de jours nécessaires à la sortie de la panicule (E), *à l'émission de pollen* (P) *et à la sortie des stigmates* (S) *chez 4 génotypes de maïs suivant la température, la valeur de l'éclairement et la photopériode.*

Photopériode	Essai	Temp. (°C)	Éclairement	Génotype											
				HP			LP			HT			LT		
				E	P	S	E	P	S	E	P	S	E	P	S
16 h	1	22	Fort	44	53	58	52	58	70*	58	64	70	70	91*	84*
	2	22	Faible	73	80	87	76	86*	90*	83	91	99*	94	104*	104*
	1	17	Fort	70	84	84	72	81	85	91	99	119	99	112	119
	2	17	Faible	99	108	111	104	115	118	106	125	119	119	132	135
9 h	1	22	Fort	44	53	53	52	58	58	58	64	70	67	75	84*
	2	22	Faible	65	72*	73	65	72*	77*	73	80	94	81	100*	94*
	1	17	Fort	64	72	72	72	72	72	81	91	91	91	112	105
	2	17	Faible	83	97	94	86	96	99	90	106	108	108	126	126

* Indique que toutes les plantes du lot n'ont pas atteint ce stade.

TABLEAU 4

Analyse de variance des données du tableau 3 pour le caractère sortie de la panicule

Les effets non significatifs ont été regroupés dans la résiduelle.
Le coefficient de variation est de 1,4 p. 100

Source de variation	Degré de liberté	F	Signification
Génotype	3	434	**
Valeur d'éclairement (VE)	1	1 649	**
Température	1	2 195	**
Photopériode	1	283	**
VE × Photopériode	1	78	**
Température × Photopériode	1	31	**
Génotype × VE	3	16	**
Génotype × température	3	7	*
Génotype × VE × température	3	12	**
Résiduelle	14		

** Significatif au seuil 0,01.
* — — 0,05.

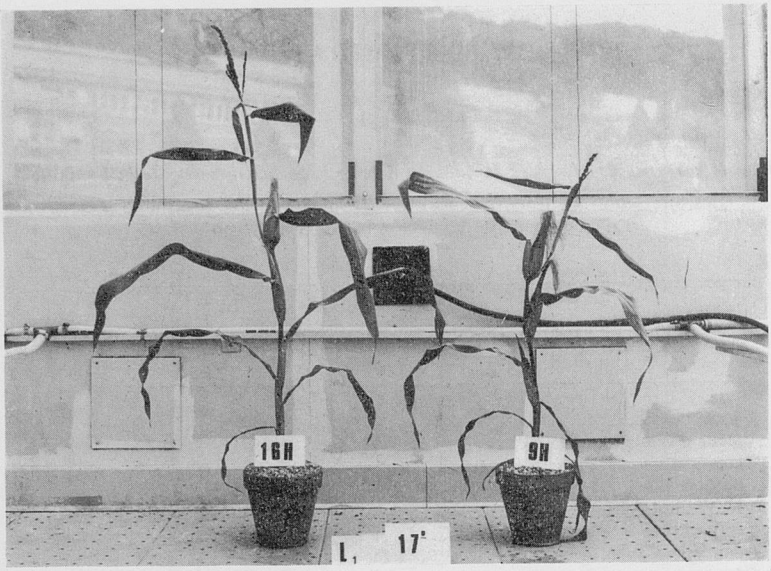
TABLEAU 5

Nombre de jours nécessaires à la sortie de la panicule (E), *à l'émission de pollen* (P) *et à la sortie des stigmates* (S) *chez 4 génotypes de maïs à 27-17°C sous un éclairement constant de 18 000 lux suivant la photopériode*

Photo-période	Génotype											
	HP			LP			HT			LT		
	E	P	S	E	P	S	E	P	S	E	P	S
24	45	53	58	47	59	66	62	73	85*	80*	*	*
	45	55	62	55	62	73	71	73	87	73	87*	101*
16	52	60	62	52	66	69*	66	75	*	94*	*	*
	48	62	69	52	64	66*	64	73	84	87*	97*	100*
9	46	59	70	46	58	66*	61	69	*	80*	*	*
	48	55	71	49	62	64	62	71	90*	69	76	80*

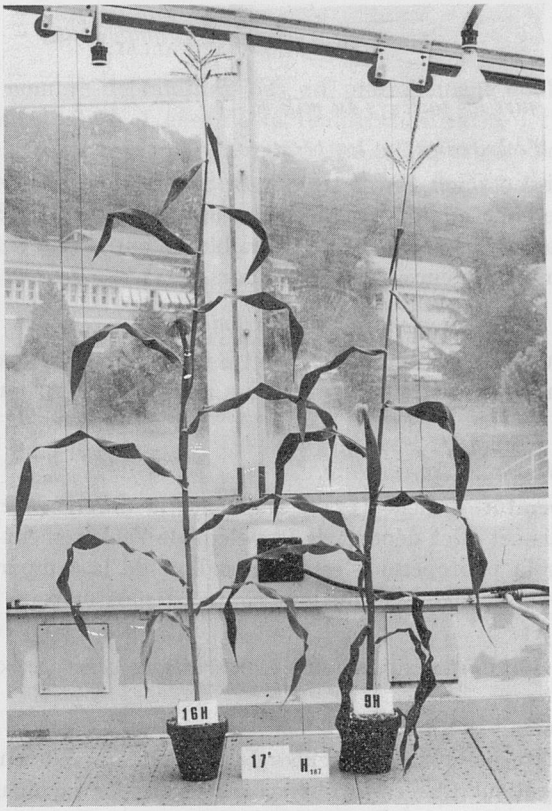
Dans chaque case figure 2 nombres, le premier est le résultat de l'expérience 3, le second de l'expérience 4.

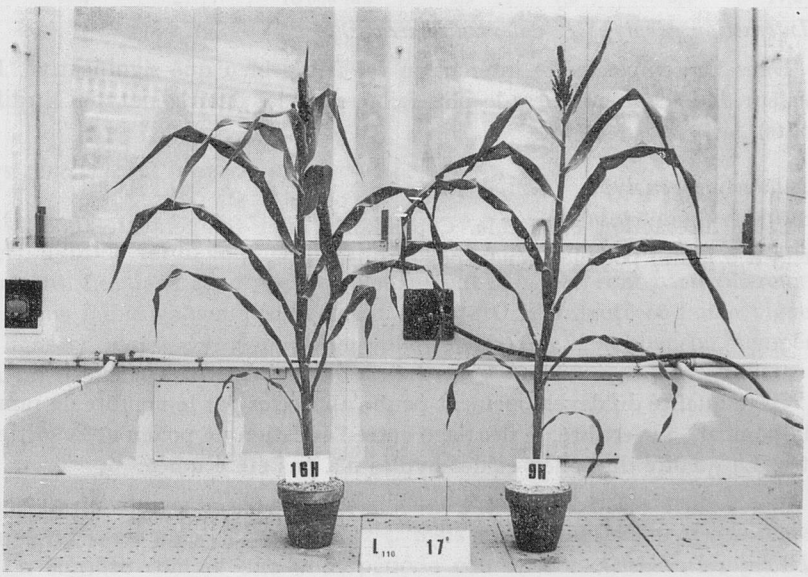
* Floraison incomplète, hétérogène ou même stérilité totale.



Culture des plantes à 17°C sous un éclairage naturel
Remarquer pour la lignée tardive (L_{110})

FIG. 1. — L_1 : *lignée précoce* (LP)
FIG. 2. — L_1 L_2 : *hybride précoce* (HP)





avec une faible valeur d'éclairement (8 000 lux)
le retard en 16 h par rapport à 9 h

FIG. 3. — *H 187 : hybride tardif* (HT)
FIG. 4. — L_{110} *: lignée tardive* (LT) *après 127 jours*

2. *Interactions entre les facteurs du milieu.*

a) *Valeur d'éclairement × température.*

L'interaction est non significative (tabl. 4). Les deux effets valeur d'éclairement et température sont additifs. Ainsi, pour un génotype donné, entre forte valeur d'éclairement × température élevée et faible valeur d'éclairement × température fraîche il y a une différence de 40 à 50 jours.

b) *Valeur de l'éclairement × photopériode.*

C'est la plus forte des interactions entre facteurs principaux : l'effet défavorable d'une faible valeur d'éclairement est moins marqué (8 à 10 jours) en photopériode courte.

c) *Photopériode × température.*

Une température fraîche (17°C) augmente la différence entre jours courts et jours longs mais cet effet dépend de la valeur de l'éclairement : si cette valeur est forte, l'effet de la photopériode est indépendant de la température, par contre si elle est faible, l'effet favorable du jour court est plus marqué à 17°C qu'à 22°C.

B. — *Facteurs génétiques et interactions génotype × milieu*

1. *Effet génotype.*

Cet effet correspond aux différences de précocité qui existent dans les conditions naturelles. Cependant les écarts observés ne sont pas de même ampleur (tabl. 1 et 3).

2. *Interaction génotype × valeur d'éclairement.*

Dans l'ensemble, cette interaction est faible bien que significative. L'effet de la valeur de l'éclairement est le plus faible pour les deux génotypes tardifs (de 5 à 8 jours).

3. *Interaction génotype × température.*

Cette interaction est faible. Cependant l'effet température tend à être plus fort (5 à 6 jours) pour les génotypes tardifs.

II. — Qualités du développement floral

Cette qualité du développement peut s'apprécier par le nombre de ramifications de la panicule, sa fertilité, le décalage entre l'émission de pollen et la sortie des stigmates. La qualité du pollen et des ovules n'a pas été étudiée.

A. — *Ramifications de la panicule* (tabl. 6)

1. *Facteurs du milieu.*

L'effet de la photopériode sur le développement de la panicule est très fort. Le nombre de ramifications est deux fois plus élevé sous une photopériode de 16 h qu'il ne l'est sous une photopériode de 9 h. Il en est de même de l'effet de la valeur

de l'éclairement : le nombre de ramifications est pratiquement doublé aux fortes valeurs par rapport aux faibles. L'effet de la température existe : 17°C augmente le nombre de ramifications par rapport à 22°C. Une faible valeur d'éclairement et une température élevée diminuent fortement le nombre de ramifications mais il n'y a pas d'interaction valeur d'éclairement × photopériode.

TABLEAU 6

Nombre de ramifications de la panicule chez 4 génotypes de maïs selon les conditions de milieu

Photopériode	Essai	Temp. (°C)	Éclairement	Génotypes			
				HP	LP	HT	LT
16 h	1	22	Fort	13,0	3,1	19,3	9,5
	2	22	Faible	9,4	1,8	9,6	1,0
	1	17	Fort	10,3	4,0	17,2	20,7
	2	17	Faible	4,9	2,5	15,8	16,5
	3	27-17	18 000 lux	18,0	4,3	24,6	23,8
	4	27-17	18 000 lux	18,1	4,5	24,8	18,6
9 h	1	22	Fort	8,6	3,0	10,8	12,3
	2	22	Faible	1,0	0,9	3,4	1,0
	1	17	Fort	5,7	1,0	9,9	19,4
	2	17	Faible	1,4	1,0	8,3	6,2
	3	27-17	18 000 lux	8,2	2,8	12,2	16,3
	4	27-17	18 000 lux	9,2	1,0	9,4	11,2
24 h	3	27-17	18 000 lux	19,4	6,3	24,0	20,7
	4	27-17	18 000 lux	19,2	3,7	15,7	13,0

2. *Facteurs génétiques et interactions génotype × milieu.*

L'effet génotype est très fort. La lignée précoce a le plus faible nombre de ramifications et l'hybride tardif le plus fort, vigueur et tardiveté favorisant le nombre de ramifications. Les deux génotypes tardifs (surtout la lignée) sont particulièrement défavorisés sous faible valeur d'éclairement et à 22°C. Tardiveté et faible vigueur (cas des lignées) réagissent dans le même sens à une combinaison température × valeur d'éclairement.

B. — *Émission de pollen* (tabl. 3)

Le facteur du milieu le plus important sur la fertilité de la panicule est la température : 17°C est plus efficace que 22°C mais une faible valeur d'éclairement augmente la stérilité comme une photopériode courte à 22°C. Une température fraîche (17°C) associée à une forte valeur d'éclairement constitue la meilleure condition. Sur la fertilité, l'effet génotype traduit surtout une action de la vigueur : les deux hybrides en 16 h n'ont pratiquement pas présenté de symptômes de stérilité.

C. — *Intervalle émission de pollen-sortie des stigmates* (tabl. 7)

En général l'émission de pollen a lieu avant la sortie des stigmates sauf à 17°C où parfois les stigmates sont apparus avant l'émission de pollen.

Il n'y a pas d'effet simple des facteurs du milieu en dehors de l'effet photopériode : une photopériode courte (9 h) réduit l'écart entre l'émission de pollen et la sortie des stigmates. A 22°C une forte valeur d'éclairement réduit aussi cet écart comme à 17°C. La plus mauvaise des conditions est pour une faible valeur d'éclairement à 22°C ou pour 18 000 lux à 27-17°C. Cela se traduit par une forte stérilité mâle et l'absence de développement de l'épi.

Les conditions qui provoquent l'écart le moins important sont une faible valeur d'éclairement à 17°C, surtout pour les 2 génotypes tardifs car pour les 2 génotypes précoces, une forte valeur d'éclairement à 17° ou 22°C est aussi assez favorable.

TABLEAU 7

Intervalle en jours entre l'émission de pollen et la sortie des stigmates selon les conditions de milieu

Photopériode	Essai	Temp. (°C)	Éclairement	Génotypes			
				HP	LP	HT	LT
16 h	1	22	Fort	5	12*	6	— 7*
	2	22	Faible	7	4*	8	0*
	1	17	Fort	0	4	20	7
	2	17	Faible	3	3	6	3
	3	27-17	18 000 lux	2	3*	—	—
	4	27-17	18 000 lux	7	2*	11	3*
9 h	1	22	Fort	0	0	6	9*
	2	22	Faible	1	5*	14	— 6
	1	17	Fort	0	0	0	— 7
	2	17	Faible	— 3	3	2	0
	3	27-17	18 000 lux	11	8*	—	—
	4	27-17	18 000 lux	16	2	19*	4*
24 h	3	27-17	18 000 lux	5	7	12	—
	4	27-17	18 000 lux	7	11	14	14*

* Indique que toutes les plantes n'ont pas émis de pollen ou sortie de stigmates.
— Indique que le calcul n'est pas possible en raison de l'absence de pollen ou de sortie des stigmates.

III. — Croissance et morphologie

A. — *Action sur la hauteur*

La hauteur totale de la plante (de la base au sommet de la panicule) est mesurée à l'émission de pollen (tabl. 8). L'effet de la photopériode est très net. En 16 h les plantes sont plus hautes d'environ 40 cm qu'en 9 h. La valeur de l'éclairement

TABLEAU 8

Hauteur totale des plantes en cm de 4 génotypes de maïs selon les conditions de milieu

Photopériode	Essai	Temp. (°C)	Éclairement	Génotypes			
				HP	LP	HT	LT
16 h	1	22	Fort	237,2	166,5	263,9	153,7
	2	22	Faible	177,7	106,6	204,9	107,1
	1	17	Fort	194,3	117,4	240,0	115,1
	2	17	Faible	157,4	114,6	208,9	112,6
	3	27-17	18 000 lux	201,8	155,3	212,0	144,8
	4	27-17	18 000 lux	229,5	148,8	199,0	160,6
9 h	1	22	Fort	171,4	94,3	196,8	120,2
	2	22	Faible	88,6	56,7	125,7	82,1
	1	17	Fort	150,3	81,4	200,3	125,4
	2	17	Faible	101,3	54,9	158,1	109,0
	3	27-17	18 000 lux	177,6	105,0	176,0	119,5
	4	27-17	18 000 lux	184,8	94,6	179,0	144,5
24 h	3	27-17	18 000 lux	233,3	185,6	211,0	162,2
	4	27-17	18 000 lux	243,2	159,0	197,3	164,0

TABLEAU 9

Nombre total de feuilles (T) *sur la plante et nombre de feuilles* (F) *au-dessus de l'épi fertile chez 4 génotypes de maïs selon les conditions de milieu*

Photo-période	Essai	Temp. (°C)	Éclairement	Génotypes							
				HP		LP		HT		LT	
				T	F	T	F	T	F	T	F
16 h	1	22	Fort	12,0	4,0	9,5	3,3	12,0	5,7	12,8	6,3
	2	22	Faible	14,6	5,0	12,3	3,9	15,4	6,1	11,6	5,0
	1	17	Fort	9,7	3,7	8,0	3,0	13,0	4,8	11,0	4,7
	2	17	Faible	11,7	4,0	11,6	3,3	12,6	4,6	13,3	4,9
	3	27-17	18 000 lux	13,0	5,0	10,8	4,0	16,0	5,8	16,5	7,0
	4	27-17	18 000 lux	13,0	4,5	9,9	3,3	15,8	5,4	14,0	6,4
9 h	1	22	Fort	9,5	3,3	9,5	3,0	11,8	4,8	12,0	5,0
	2	22	Faible	13,4	3,2	9,8	3,3	10,9	5,6	10,1	4,4
	1	17	Fort	8,9	3,6	7,9	2,4	11,1	4,0	10,9	4,6
	2	17	Faible	10,0	3,1	8,7	2,3	10,0	3,9	10,7	4,2
	3	27-17	18 000 lux	10,2	3,5	9,0	3,5	11,8	5,4	13,5	5,5
	4	27-17	18 000 lux	11,8	4,0	8,7	3,0	13,1	5,7	12,8	5,5
24 h	4	27-17	18 000 lux	13,0	5,0	12,7	4,0	14,5	5,8	15,2	7,2

exerce aussi une action importante. Par contre l'effet de la température est assez faible. D'autre part il n'y a pas d'interaction photopériode × valeur de l'éclairement. Par contre il apparaît des interactions température × valeur d'éclairement. Jours longs, température élevée et forte valeur d'éclairement sont des facteurs favorisant la croissance. L'effet génotype (vigueur hybride) est très fort et il existe des interactions génotype × photopériode et génotype × température. L'écart entre 9 h et 16 h est très réduit pour la lignée tardive. De même l'écart entre 17 et 22°C est plus faible pour les génotypes tardifs.

B. — *Action sur le nombre total de feuilles* (tabl. 9)

Le nombre de feuilles vivantes par plante est mesuré à l'émission de pollen. En 9 h les plantes présentent en moyenne, 2 feuilles de moins qu'en 16 h. De même, à 22°C par rapport à 17°C, le nombre de feuilles augmente de 1 à 3. L'effet de la valeur de l'éclairement est très faible. L'effet génotype existe et il apparaît des interactions génotype × température et génotype × valeur éclairement. Les maïs tardifs réagissent peu aux différences de températures et de valeurs d'éclairement. L'interaction génotype × photopériode apparaît très faible. Ce ne sont donc pas exactement les mêmes interactions de facteurs qui agissent sur la hauteur et sur le nombre total de feuilles.

C. — *Action sur le nombre de feuilles au-dessus de l'épi* (tabl. 9)

Les jours courts et les températures basses surtout pour les génotypes précoces diminuent le nombre de feuilles au-dessus de l'épi. Cependant le rapport feuilles au-dessus de l'épi sur feuilles totales est peu affecté par les conditions du milieu.

IV. — Résultats préliminaires sur l'effet de basses températures pendant la germination

Le tableau 10 donne les résultats des expériences 5 et 6. Compte tenu de la durée de la germination à 5°C (20 jours), il est difficile de juger de l'effet des basses températures sur la vitesse de développement. Seuls les critères de fertilité mâle ou femelle et d'intervalle émission de pollen et la sortie des stigmates peuvent être valablement considérés dans cette première étude.

L'expérience 6 en conditions artificielles et à 27°-17°C conduit à des phénomènes de stérilités mâle et femelle surtout marqués pour la lignée tardive et à un degré moindre, pour l'hybride tardif. Dans ces conditions la germination à basse température n'a rien apporté pour aucun des génotypes et quelle que soit la photopériode. Les résultats obtenus sont qualitativement très comparables à ceux obtenus en 9 h et 16 h de photopériode pour les expériences 3 et 4, réalisées à la même température. Par contre au niveau de l'expérience 5, à 22°C et forte intensité lumineuse avec une photopériode de 9 h, un effet favorable de la germination à basse température apparaît au niveau de l'écart entre l'émission de pollen et la sortie des stigmates surtout pour l'hybride tardif, mais aussi légèrement pour la lignée tardive. C'est la floraison femelle qui a été accélérée pour ces génotypes. L'analyse de variance sur ce critère fait d'ailleurs apparaître une interaction génotype × température de germination significative à une probabilité comprise entre 0,05 et 0,10.

TABLEAU 10

Effet de la germination à basse température sur le nombre de jours nécessaires ensuite à la sortie de la panicule (E), *à l'émission de pollen* (P) *et à la sortie des stigmates* (S) *selon les conditions de milieu après la germination*

Éclairement température	Photopériode	Germination (3)	HP			LP			HT			LT		
			E	P	S	E	P	S	E	P	S	E	P	S
Fort (1) 22°C	16 h	N	44	48	50	42	51	55	59	63	83	58	75	83
		Bt	41	48	50	40	51	51	59	59	72	64	75	83
	9 h	N	41	50	48	40	51	51	59	63	92	55	58	64
		Bt	38	44	48	38	44	51	44	59	59	55	58	58
18 000 lux (2) 27-17°C	16 h	N	50	59	72	51	64	74	69	72	113*	83	*	104
		Bt	50	59	72	44	57	104*	65	72	83	*	*	*
	9 h	N	59	59	72	42	57	64	65	83	83*	75	75	*
		Bt	44	48	59	42	51	104*	52	65	113*	64	75	*

(1) Expérience 5.
(2) Expérience 6.
(3) N : germination dans les conditions du milieu,
Bt : germination à 5°C en 16 h de 18 000 lux.
* Floraison incomplète, hétérogène ou même stérilité totale.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Nous examinerons d'abord l'intérêt des résultats obtenus pour les autofécondations ou les hybridations à réaliser en conditions artificielles puis nous essayerons de proposer une interprétation physiologique de ces résultats.

Dans les conditions de nos expériences, pour avoir le développement floral le plus rapide possible, il est nécessaire de réunir une forte valeur d'éclairement, une photopériode courte et une température tiède (22°C). Cependant le développement floral le plus rapide n'est pas un critère suffisant pour le généticien ou le sélectionneur. Il est nécessaire d'obtenir l'émission de pollen, la sortie des stigmates et une simultanéité de l'émission de pollen et de la sortie des stigmates (condition essentielle à la réussite de l'autofécondation). Le développement d'une panicule très ramifiée dépend d'une forte valeur d'éclairement et d'une photopériode longue (16 h) mais l'intervalle entre l'émission de pollen et la sortie des stigmates est plus faible en 9 h. La température de 17°C favorise à la fois l'émission de pollen et la sortie des stigmates. Une forte valeur d'éclairement à 22°C et à 17°C semble la meilleure combinaison (valeur d'éclairement × température) pour réduire l'écart entre l'émission de pollen et la sortie des stigmates. Cependant des interactions peuvent exister entre les génotypes : en particulier, pour les génotypes tardifs, l'écart est le plus faible à 17°C sous faible valeur d'éclairement et avec une assez bonne fertilité. L'action d'une basse température pendant la germination, ou à un stade jeune est encore à préciser.

En pratique, parmi les conditions étudiées celles qui permettent le mieux de réunir la rapidité et la qualité du développement floral sont : les fortes valeurs d'éclairement, une température de 17°C et une photopériode courte (9 h). D'autres conditions, utilisables en serre en hiver, comme 17°C et une faible valeur d'éclairement, ainsi qu'une photopériode longue permettent d'obtenir un développement floral correct. La photopériode longue compense partiellement la faible valeur d'éclairement mais le développement floral est allongé d'environ 50 jours. Il nous semble essentiel, quelles que soient les conditions de photopériode et de valeur d'éclairement, d'éviter les températures trop élevées (pointes de températures dans les serres).

L'ensemble de ces résultats expérimentaux montre que les maïs étudiés sont des plantes de jour court préférantes : le développement floral est généralement plus rapide en 9 h qu'en 16 h. Cet effet est surtout marqué, quel que soit le génotype étudié, à une faible valeur d'éclairement et à une température de 17°C. Cependant, à 22°C en *éclairement fort*, 3 génotypes (HP, LP, HT) sont indifférents à la photopériode pour les critères sortie de la panicule et émission de pollen (tabl. 3).

D'autre part les conditions les plus favorables à la croissance (forte valeur d'éclairement, photopériode longue, température de 22°C) n'entraînent pas le développement floral le plus rapide. En jours courts le nombre de feuilles produites à la sortie de la panicule mâle est inférieur, en général de 2, à celui produit en jours longs. Les conditions externes les plus favorables au développement floral sont donc différentes de celles qui provoquent la croissance la plus rapide.

Les exigences pour obtenir une épiaison rapide (sortie de la panicule) puis l'émis-

sion de pollen ne sont pas les mêmes que celles nécessaires à la sortie des stigmates. Ainsi à 27-17°C en 9 h sous 18 000 lux, le temps nécessaire à la sortie des stigmates est plus long qu'en 16 h mais la sortie de la panicule et l'émission de pollen sont obtenues plus rapidement. D'autre part une température de 22°C augmente l'écart entre l'émission de pollen et la sortie des stigmates et la comparaison des résultats des expériences 3 et 4 montre que le critère de la sortie des stigmates est beaucoup plus variable que les critères de la sortie de la panicule et de l'émission de pollen.

Les concepts d'induction primaire et d'induction secondaire pour la floraison des plantes (Blondon, 1968) permettent d'envisager l'explication de ces phénomènes. Les mêmes facteurs (température, photopériode, valeur de l'éclairement) agissent en interaction sur la réalisation de deux inductions successives (nécessaires à la mise à fleur et à son achèvement) mais avec des efficacités différentes pour chacune d'entre elles. Pour l'induction primaire, la température fraîche ou froide a la plus grande efficacité mais les actions d'une photopériode courte et d'une forte valeur d'éclairement ne sont pas négligeables (Blondon, 1972). Les expériences réalisées ne permettent pas de dissocier les exigences pour l'induction primaire de celles nécessaires à l'induction secondaire. Cependant différents indices conduisent à supposer la nécessité d'une induction primaire marquée, pour avoir un bon développement floral.

— Une température tiède et une photopériode longue (16 h) sont défavorables au développement floral mais une forte valeur d'éclairement peut supprimer l'effet défavorable d'une température tiède ou d'une photopériode longue.

— La floraison femelle serait plus exigeante en induction primaire que la floraison mâle, surtout pour les génotypes tardifs car l'écart entre la floraison mâle et la floraison femelle est souvent plus réduit par les traitements favorables chez les génotypes précoces que chez les tardifs.

— La tardiveté pourrait correspondre à des exigences plus élevées en induction primaire et expliquerait les accidents plus fréquents observés sur le matériel tardif, surtout sur la lignée. En effet, une faible vigueur augmente les exigences. L'effet de la vigueur peut se comparer à l'action de la nutrition minérale sur la floraison (Blondon, 1964).

— La plus grande sensibilité de la floraison femelle aux facteurs incontrôlés du milieu (tabl. 2), peut refléter aussi cette plus grande exigence. Celle-ci apparaît encore plus nettement dans l'étude de l'effet de basses températures pendant la germination. Seul le matériel tardif est affecté et seulement à 22°C sous une photopériode de 9 h et une valeur d'éclairement élevée. Le fait que la lignée tardive soit moins affectée que l'hybride peut traduire, comme nous le signalions précédemment, une plus grande exigence de la lignée.

Le Maïs semble donc exiger une induction primaire marquée. Elle se réaliserait normalement dans les conditions naturelles sous l'action des températures fraîches de printemps et des durées d'éclairement relativement courtes. Par contre dans les conditions de serre (température élevée, valeur d'éclairement plus faible, prolongation de la photopériode avec des éclairements faibles) l'induction primaire se réaliserait seulement plus ou moins partiellement selon les exigences des génotypes. Les conditions de développement floral optimales seraient les suivantes : durant les 4 à 5 premières semaines, des durées d'éclairement relativement courtes (aux environs

de 12 h) et à température fraîche (15°C), puis des durées d'éclairement longues (14 à 16 h) à une température tiède (20°C). La vérification des hypothèses proposées est en cours au Phytotron.

Reçu pour publication en octobre 1975.

SUMMARY

THE EFFECT OF TEMPERATURE, LEVEL OF LIGHTING AND PHOTOPERIOD ON THE FLORAL DEVELOPMENT OF FOUR GENOTYPES OF MAIZE

The effects of temperature, light intensity and photoperiod on floral development (panicle emergence, pollen shedding and stigma protrusion) in relation to growth in two lines and two hybrids of maize (early or late) were studied in a phytotron. The effect of low temperatures during germination are also investigated.

Maize is a plant which prefers short days and the most favorable conditions for growth do not coincide with those allowing for the most rapid and best floral development. As far as development is concerned the optimal conditions among those studied are : high light intensity (about 30 000 lux), 17°C and 9 hours photoperiod. Cool temperature (17°C) and high light intensity are the most important factors.

These factors are more critical for late genotypes than for early ones and low vigor increase there requirements. Female flowering is more sensitive than male. These conclusions are confirmed by the effect of low temperatures during germination : they accelerate female flowering of late material, but only at short days (9 hours) and with a temperature which is not too high.

An attempt at an interpretation of the requirements for flowering at a cool temperature, light intensity and photoperiod is proposed. These requirements seem to point towards strong requirements in primary induction.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ARNOLD C. Y., 1969. Environmentally induced variations of Sweet Corn characteristics as they related to the time required for development. *J. Amer. Soc. hort. Sci.*, **94**, 115-118.

ARNOLD C. Y., 1974. Predicting stages of sweet corn (*Zea mays* L.) development. *J. Amer. Soc. hort. Sci.*, **99**, 501-505.

BECKER W. R., 1954. The response of maize to length of day. *Inst. Landbouwk. Onderzoek*, 167-171. cité par MESSIAEN (1963). *Ann. Epiphyties*, **14**, n° Hors série II, 1-90.

BLONDON F., 1964. Action de la nutrition minérale sur la floraison. *Bull. ENSAN*, Nancy, **6** (2), 101-108.

BLONDON F., 1968. *Facteurs externes et déterminisme floral d'un clone de* Dactylis glomerata *L.* Thèse d'État, C. N. R. S. n° AO 2522, 132 pages.

BLONDON F., 1972. Action de différentes intensités d'éclairement en jours continus, à diverses températures, sur le processus préparatoire à la floraison chez un clone de *Festuca arundinacea* SCHREB. *C. R. Acad. Sci.*, **274**, 218-221.

BROUWER R., KLEINENDORST A., LOCHER J. Th., 1973. Growth responses of maize plants to temperature. In *Plant response to climatic factors*, 169-174, Edit. Slatyer, UNESCO, Paris.

COLIGADO M. C., BROWN D. M., 1975. Response of Corn (*Zea mays* L.) in the pre-tassel initiation period to temperature and photoperiod. *Agri. Meteorology*, **14**, 357-364.

FRANCIS C. A., 1973. The effects of photoperiod on growth and morphogenesis in maize (*Zea mays* L.) : field trials in Colombia. In *Plant response to climatic factors*, 57-59, Edit. Slatyer, UNESCO, Paris.

GALINAT W. C., NAYLOR A. W., 1951. Relation of photoperiod to inflorescence proliferation in *Zea mays* L. *Amer. J. Bot.*, **38**, 38-46.

HUNTER R. B., HUNT L. A., KANNENBERG L. W., 1974. Photoperiod and temperature effects on corn. *Can. J. Plant Sci.*, **54**, 71-78.

MESSIAEN C. M., 1963. Physiologie du développement chez *Zea mays*. *Ann. Epiphyties*, **14**, n° Hors série II, 1-90.

MIKULA B. C., TROWBRIDGE C., 1968. Tassel induction and alteration of R^1 expression by short term LD treatments. *Maize Genetics Coop. Newsletter*, **42**, 32-34.

PALMER A. F. E., 1973. Photoperiod and temperature effects on a number of plant characters in several races of maize grown in the field. In *Plant Response to climatic factors*, 113-119. Edit. Slatyer, UNESCO, Paris.

RAGLAND J. S., HATFIELD A. L., BENOIT G. R., 1966. Photoperiod effects on ear components of Corn. *Zea mays* L. *Agron. J.*, **58**, 455-456.

SCHAFFNER J. H., 1927. Control of sex reversal in the tassel of indian Corn. *Bot. Gaz.*, **84**, 440-449.

SCHAFFNER J. H., 1930. Sex reversal and the experimental production of neutral tassels in *Zea mays*. *Bot. Gaz.*, **90**, 278-279.

SPRAGUE G. F., 1934. Experiments on iarovising Corn. *J. Agr. Res.*, **48**, 1113-1120.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (2), 215-234.

DÉTERMINISME GÉNÉTIQUE DE LA RÉSISTANCE A *COLLETOTRICHUM TRIFOLII* CHEZ *MEDICAGO SATIVA* L. [1]

P. GUY

Station d'Amélioration des Plantes fourragères, I. N. R. A., 86600 Lusignan

RÉSUMÉ

Le progrès rapide de la tolérance à l'anthracnose au cours des cycles de sélection massale rend intéressante une étude génétique. Les expériences sont conduites en chambre de culture. Il est difficile de faire correspondre un génotype et un phénotype, cependant une certaine discontinuité dans la distribution des notes et dans l'expression phénotypique, a permis de séparer plantes sensibles et tolérantes. En 1974, CAMPBELL concluait à un seul gène dominant. L'auteur confronte les résultats d'une sélection massale avec un déterminisme génétique autotétraploïde et compare diverses hypothèses : un allèle à dominance complète, partielle ou à seuil, une inoculation complète ou partielle. L'existence de phénotypes intermédiaires, la comparaison des réponses théoriques et observées à la sélection conduit à retenir l'hypothèse d'un allèle à dominance incomplète et à expression phénotypique variable.

INTRODUCTION

L'interprétation qui suit porte essentiellement sur des expériences réalisées à Lusignan par J. GONDRAN et G. GENIER ou à Thiverval-Grignon par G. RAYNAL. Ces expériences ne sont pas encore publiées pour la plupart mais le progrès très rapide de la tolérance à *Colletotrichum trifolii* au cours des cycles de sélection massale intrafamiliale rendait intéressant un essai d'interprétation génétique en complément des études de mise au point de méthode d'inoculation artificielle réalisées par J. GONDRAN et A. MAINER (1973).

[1] Les expériences furent conduites par J. GONDRAN et A. MAINER, Laboratoire de Pathologie végétale de Lusignan, G. GENIER, Station d'Amélioration des Plantes fourragères de Lusignan, G. RAYNAL Laboratoire de Recherches de la Chaire de Botanique et de Pathologie végétale, I. N. A., Thiverval-Grignon.

RAPPEL DES PRINCIPAUX RÉSULTATS

A. — *Conditions expérimentales. Échelle de notation*

Les conditions expérimentales des tests en chambre de culture sont celles définies par GONDRAN et MAINER (1973).

— 24°C, 17 000 lux et une humidité relative, voisine de la saturation.

L'échelle de notation est la suivante :

1 plante sans symptômes,
2 points nécrotiques (ou stries sur les tiges),
3 nécroses larges sur les tiges, éventuellement acervules (1) mais la tige n'est pas flétrie,
4 la nécrose de la tige entraîne son flétrissement,
5 plante entièrement flétrie ou morte.

Les classes 1 et 2 sont difficiles à distinguer, la meilleure méthode étant peut-être un frottement léger du doigt sur la tige.

B. — *Fidélité de la méthode*

La même expérience fut répétée deux fois, ce qui permet, malgré une certaine différence dans les densités des plantations, de juger la répétabilité des résultats et la fidélité de la méthode (cf. tabl. 1). Une expérience ultérieure (décembre 1974) confirme une certaine fluctuation des résultats.

TABLEAU I

Comparaison des notations de tolérance à Colletotrichum trifolii *au cours de deux expériences indépendantes*

Comparison of notes of tolerance to Colletotrichum trifolii *in two independant experiments*

	Notes						Nombre de plantes
	1	2	3	4	5	$\bar{x}$	
Expérience 1 : février 1973							
MSA CW3 An3	84,4	3,1	0	11,9	0,6	1,41	160
Europe	1,9	2,5	5,6	1,9	88,1	4,72	160
Expérience 2 : octobre 1973							
MSA CW3 An3	26,9	63,9	1,0	3,4	4,8	2,02	208
Europe	1,8	8,7	7,7	20,9	61,7	4,34	196

(1) Acervule : forme de fructification spécifique des Mélanconiales.

L'âge, la densité du peuplement la souche, les conditions de milieu dans les jours qui suivent l'inoculation modifient l'intensité de l'attaque. Il est ainsi difficile de faire correspondre un phénotype et un génotype. Cependant observant une certaine discontinuité entre les notes 2 et 3, le transfert fréquent de 1 vers 2, GONDRAN a pu conclure en première approximation que les plantes 1 et 2 sont résistantes, 3, 4 et 5 sont sensibles.

C. — *Progrès dans la sélection*

Les progrès en un cycle de sélection massale intrafamiliale sont spectaculaires comme le montre les tableaux 2 et 3. Les résultats expérimentaux confirment les observations de OSTAZESKI (1969) qui concluait qu'il y a peu de gènes en cause, peut-être un seul avec dominance partielle.

TABLEAU 2

Résultat d'un cycle de sélection en fonction du niveau de la population de départ C_0. Les plantes notées 1 et 2 sont considérées comme tolérantes
(résultats expérimentaux)

Result of one cycle of selection as a fonction of initial population level. Plants noted 1 and 2 are considered tolerant
(experimental results)

	Pourcentage de plantes tolérantes à *Colletotrichum trifolii*		
C_0 ou An_0	3	14	74
C_1 ou An_1	31	56	82
C_1-C_0	28	42	8

TABLEAU 3 (*page suivante*)

Résistance a l'anthracnose de populations de Luzerne et de leur descendance, après un cycle de sélection massale intrafamiliale (GONDRAN, 1973)

Caractéristiques de l'essai

— isolement de champignon : *Colletotrichum trifolii* C.86.1
— nombre de spores par ml : $2 \cdot 10^6$
— âge des plantes : 1 mois = 7-8 feuilles trifoliées à l'inoculation
— densité des plantes : 2 × 2 cm
— inoculation le 12 septembre 1973
— notation le 8 octobre 1973.

Effect of one cycle of within family mass selection on resistance of lucerne populations to anthracnose

Characteristics of the trial

— Fungal isolation : *Collectotrichum trifolii* C.86.1.
— number of spores par ml : 2.10^6
— age of plants at inoculation : 1 month — 7-8 trifoliate leaves
— plant density : 2 × 2 cm
— inoculation 12-9-73
— notation 8-10-73

TABLEAU 3

Populations de Luzerne	Avant la sélection (sur 200 plants env.)			Après une sélection massale pour la résistance à l'Anthracnose (sur 200 plantes environ)			
				plantes mères		descendance des plantes mères	
	niveau de la résistance à l'anthracnose	moyenne des notes (1 à 5) (A)	p. 100 des plantes résistantes (1 + 2) (B)	notes	nombre de plantes triées	moyenne des notes 1 à 5 (A)	p. 100 de plantes résistantes (1 + 2) (B)
MSA CW3 An3	Haut	2,02^{b}	91,0^{a}	1	25	1,58^{a}	86,3^{ab}
				2	6	2,36^{b}	77,3^{ab}
Beltsville 3 An4		2,34^{b}	78,7^{ab}	1	25	2,09^{b}	83,3^{ab}
Beltsville 1 An4		2,40^{b}	80,3^{ab}	1	25	2,26^{b}	82,7^{ab}
				2	6	2,10^{b}	89,7^{ab}
MSB CW3 An3		2,66^{bc}	69,7^{b}	1	25	2,14^{b}	78,0^{ab}
Beltsville 2 An4		2,92^{c}	51,3^{c}	1	25	2,39^{b}	74,0^{b}
Moyenne haut niveau		2,5	74			2,1	82
Moapa	Faible	3,79^{de}	16,0^{de}	1	9	2,57^{bc}	57,8^{bc}
				2	4		
Vertus		4,17^{e}	15,3^{de}	1	26	2,29^{b}	78,3^{ab}
Vernal		4,33^{ef}	13,3^{de}	1	3	2,82^{c}	48,7^{c}
				2	2		
Europe		4,34^{ef}	9,7^{e}	1	5	2,99^{c}	39,0^{cd}
				2	5		
				3	11		
Moyenne faible niveau		4,2	14			2,7	56
Sabilt	Très faible	4,60^{f}	3,3^{ef}	2	1	3,53^{d}	29,6^{de}
Verneuil		4,67^{f}	4,0^{ef}	1	1	2,74^{bc}	50,7^{c}
				2	4		
Maris phoenix		4,72^{f}	0,7^{f}	1	3	3,95^{c}	12,7^{de}
				3	11		
Moyenne très faible niveau		4,7	3			3,4	31
Coefficients de variation						7,5 %	14,8 %

N. B. : Dans les colonnes (A) les populations de Luzerne sont classées par le test de Duncan suivant la moyenne des notes. Dans les colonnes (B) les populations de Luzerne sont classées par le test de Duncan suivant le pourcentage des plantes résistantes. (*In columns A lucerne populations are classed by the Duncan test on mean. In columns B populations are classed by the Duncan test on percentages*).

ESSAI D'INTERPRÉTATION GÉNÉTIQUE DES RÉSULTATS

Les résultats concernant la résistance à *Colletotrichum trifolii* chez *Medicago sativa* sont-ils interprétables avec un seul locus ?

A. — *1re hypothèse*

L'inoculation est toujours suffisamment homogène et complète pour que nous puissions trier les plantes sensibles et les plantes résistantes ; un seul gène est en cause. Nous considérons que les plantes notées 1 et 2 sont résistantes.

Chez *Medicago sativa*, autotétraploïde, il y a 5 génotypes possibles :

AAAA ou A_4
AAAa ou A_3
AAaa ou A_2
Aaaa ou A_1
aaaa ou A_0

a) Si l'allèle de résistance est récessif. La génération C_1 sera toujours 100 p. 100 tolérante, car la sélection ne retiendra que les plantes A_0. C'est inexact, incompatible avec l'expérience.

b) Si l'allèle de résistance est à dominance incomplète tel que $A_1 > A_3 > A_2 > A_1 > A_0$ avec identification des génotypes avec par exemple A_1 note 1, A_3 note 2, ... A_0 note 5. La sélection des seules plantes 1 ou A_1 donnera en génération C_1, après un cycle de sélection massale 100 p. 100 de plantes résistantes, ce qui est incompatible avec les résultats.

c) Si le gène de résistance est de type dominance à seuil, par exemple

$$A_4 = A_3 = \text{résistant},$$
$$A_2 = A_1 = A_0 = \text{sensible}.$$

Nous diviserons nos plantes en deux classes notes 1 et 2 plantes résistantes, notes 3, 4 et 5 plantes sensibles qui sépareront les génotypes en deux ensembles disjoints, c'est-à-dire sans recouvrement :

1	2	3	4	5
A_1	A_3	A_2	A_1	A_0

Cela revient encore à supposer qu'il n'y a pas d'erreur de classification. Le tableau 4 montre l'évolution de la structure de la génération C_0 à la génération C_1, si chaque génotype se reproduit en panmixie (il serait de même en autofécondation aux effets de consanguinité près).

Nous constatons que chaque type de génotype résistant donne en descendance 75 ou 100 p 100 de plantes tolérantes. Dans ces conditions un mélange de génotypes résistants donnera toujours une descendance ayant de 75 à 100 p. 100 de plantes tolérantes ce qui est incompatible avec les résultats. Précisons que dans le cas d'une

population C_0 panmictique, la descendance sera d'autant plus sensible et tendra vers 25 p. 100 de plantes sensibles que la dominance sera plus complète c'est-à-dire $A_4 = A_3 = A_2 = A_1 > A_0$.

TABLEAU 4

Pourcentage de plantes tolérantes en génération C_1 en fonction du génotype pouvant manifester la tolérance en C_0

(cas de dominance à seuil)

Percentage of tolerant plants in generation C_1 as a function of which genotypes manifest tolerance in C_0

(case of threshold dominance)

génération		C_1				
	génotypes	A_4	A_3	A_2	A_1	A_0
		100 %	75 %	75 %	75 %	
	A_4	1				
	A_3	1/4	1/2	1/4		
C_0	A_2	1/36	2/9	1/2	2/9	1/36
	A_1			1/4	1/2	1/4
	A_0					1

Cette notion de dominance est phénotypique, elle dépend dans une large mesure de l'acuité avec laquelle nous observons les plantes (Ainsi certains observateurs distinguent bien les notes 1 et 2, d'autres pas).

d) Si le gène est à dominance complète (cas particulier d'une dominance à seuil) que nous soyons toujours parfaitement capables de distinguer A_0 sensible de A_4 à A_1 résistants, nous pouvons en considérant les populations C_0 à l'équilibre panmictique calculer l'évolution théorique de C_0 en C_1.

Éléments de calcul :

En C_0, si q est la fréquence du gène récessif de sensibilité, les génotypes A_4, A_3, A_2, A_1 et A_0 auront les fréquences suivantes p^4, $4p^3q$, $6p^2q^2$ $4pq^3$, q^4.

La fréquence des plantes sensibles sera donc égale à q^4.

En C_1, la génération C_1 provient de la multiplication en panmixie des seuls génotypes A_4 à A_1 résistants, le génotype A_0 est éliminé. Les plantes sensibles de la génération C_1 proviennent de l'union de deux gamètes homogènes, récessifs

$$P_r\ A_0 = P^2$$

avec $$P = \left[\frac{4pq^3}{2} + \frac{6p^2q^2}{6}\right] \frac{1}{1 - q^4}$$

Nous obtenons l'évolution théorique présentée tableau 5.

Comme dans le cas précédent, ces données théoriques sont très éloignées des résultats expérimentaux (tabl. 2 et 3) tout au moins pour les variétés sensibles.

TABLEAU 5

Résultat d'un cycle de sélection massale en fonction du niveau de la population de départ C_0. Cas d'un gène de tolérance dominant (résultats théoriques)

Result of one cycle of mass selection as a function of initial population level. Case of one gene dominant for tolerance (theoretical results)

	Pourcentage de plantes tolératnes						
C_0	1	5	15	30	50	68,4	90
C_1	75,5	75,5	77,4	79,4	82,9	87,0	95,3
C_1-C_0	74,5	70,8	62,4	49,4	32,9	18,6	5,3

Nous pouvons y voir plusieurs raisons entre autres :

— une inégalité dans les phénotypes des plantes-mères sélectionnées comme le tableau 3 le montre. Les notes 1, 2 ou 3 des plantes-mères retenues influent fortement sur la valeur de la descendance (fig. 5). Il nous faut cependant distinguer la majorité des familles où les plantes retenues sont plus tolérantes que la famille d'origine et deux familles provenant de la multiplication en panmixie des plantes notées 2 dans MSA CW3 An3 et des plantes notées 2 dans Beltsville 1 An4 où les plantes retenues apparaissent plus sensibles que les deux familles d'origine respectivement notées 1,39 et 1,75 dans l'essai de GONDRAN et MAINER (1973) qui est à l'origine du tri.

La moyenne des notes a un caractère artificiel (échelle arbitraire, distribution bimodale) et nous pouvons nous demander si la sélection des plantes notées 2(généralement considérées comme résistantes par les pathologistes, mais ici plus sensibles que la moyenne) permet ou non un progrès dans ces 2 familles déjà très tolérantes. L'examen des résultats (fig. 1) montre qu'il n'y a pas d'évolution significative du niveau de tolérance.

Nous pouvons (fig. 1) tracer trois droites de régression :

a) descendance/plante-mère lorsque les plantes-mères sont plus tolérantes que la famille d'origine,

b) descendance/plante-mère pour ces deux familles très tolérantes où nous avons pu comparer la descendance des plantes notées 1 et notées 2,

c) essai 2/essai 1 pour 12 témoins.

La descendance se situe entre la valeur phénotypique des plantes-mères retenues et celle de la famille d'origine, il y a régression, retour vers le point de départ.

— une mauvaise inoculation.

La liaison plante-mère et descendance s'est traduite sur la figure 1 par deux

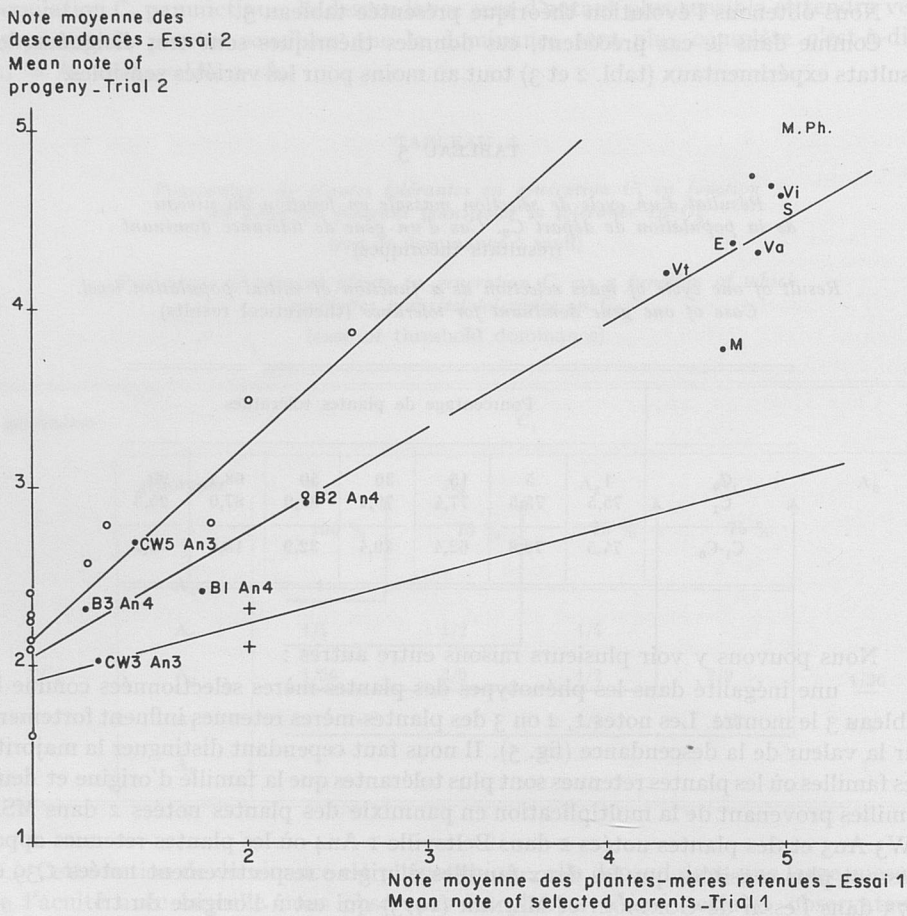


FIG. 1. — *Régression de la descendance sur la valeur des plantes-mères pour la tolérance au* Colletotrichum trifolii

o plantes-mères plus tolérantes que la famille d'origine
\+ plantes-mères plus sensibles que la famille d'origine
• régression témoins essai 2/essai 1

Regression of progeny on selected parents for tolerance to Colletotrichum trifolii

o parent plants more tolerant than the original family
\+ parents plants more sensitive than the original family
• regression controls trials 2/trials 1

droites de régression situées de part et d'autre de la droite de correspondance entre les notes des témoins dans l'essai 1 et dans l'essai 2. Ceci peut traduire un effet milieu, une mauvaise identification des génotypes et nous conduit à supposer que le Colletotrichum ne fut pas inoculé à une partie des plantes.

B. — *2e hypothèse*

Une fraction des plantes n'est pas contaminée. Un seul gène à dominance complète contrôle la résistance.

Éléments de calcul :

La non-inoculation intervient également pour les plantes sensibles et tolérantes. Nous distinguerons les pourcentages apparents et réels de tolérance. Le pourcentage apparent tient compte seulement du phénotype, il cumule les plantes tolérantes vraies et les plantes sensibles non-contaminées. Le pourcentage réel ne tient compte que du génotype.

En C_0 soit x le taux de non-inoculation

le taux réel de tolérance est $1 - q^4$
le taux apparent est $1 - q^4 + xq^4$

En C_1 faisons le même calcul que précédemment mais

$$P = [2\,pq^3 + p^2q^2 + xq^4]\,\frac{1}{1 - q^4 + xq^4}$$

Dans l'hypothèse de 5 p. 100 de plantes non-contaminées, nous obtenons une évolution théorique présentée tableau 6.

TABLEAU 6

Résultat d'un cycle de sélection massale en fonction du niveau de la population de départ C_0. Cas d'un gène de tolérance dominant avec 5 p. 100 de plantes non-inoculées (résultat théorique)

Result of one cycle of mass selection as a function of initial population level. Case of one gene dominant for tolerance with 5 p. 100 of non-inoculated plants (theoretical results)

		Pourcentage de plantes tolérantes						
Génotype (réel)	C_0	1	5	10	30	50	68,4	90
	C_1	16,3	45	58,2	73,9	80,5	86,0	94
	C_1-C_0	15,3	40	48,2	43,9	30,5	17,6	4
Phénotype (apparent)	C_0	0	9,3	14,5	33,5	52,5	69,9	90,5
	C_1	20,5	47,8	60,3	75,2	81,5	86,7	94,3
	C_1-C_0	14,5	38,0	45,8	41,7	29,0	16,8	3,8

Nous constatons une grande similitude entre la réponse expérimentale à la sélection et la réponse théorique (un gène dominant, faible taux de plantes non-contaminées).

Le gain de tolérance passe par un maximum très important, plus de 40 p. 100 pour des populations ayant 10 à 30 p. 100 de tolérance initiale. Le gain est faible tant pour les populations tolérantes que pour les populations très sensibles. Ceci résulte du fait que l'absence d'inoculation est beaucoup plus gênante dans les populations à très faible niveau de tolérance que dans les autres ; un exemple le montre

aisément. Considérons des populations avec 1 p. 1000, 1 p. 100, 90 p. 100 de génotypes tolérants. S'il y a 5 p. 100 de non-inoculation, nous retiendrons après tri des plantes tolérantes, plus les plantes sensibles non-contaminées soit respectivement $\frac{5}{100} \times \frac{999}{1\,000}$, $\frac{5}{100} \times \frac{99}{100}$ et $\frac{5}{100} \times \frac{10}{100}$. Ces trois populations C_0 comprendront après sélection, une proportion de l'ordre $\frac{1}{51}$, $\frac{1}{6}$, $\frac{180}{181}$ plantes tolérantes. A l'évidence, les

TABLEAU 7

Nombre de plantes par note en fonction du niveau de tolérance des familles. Répartition en pourcentage

D'après GONDRAN et GENIER

Distribution of plants for families of different tolerance level

Results of GONDRAN and GENIER

Familles	Phénotype (noté de 1 à 5)				
	1	2	3	4	5
Forte tolérance (*highly tolerant*)					
Beltsville 1 An4 C_1	28	152	12	9	18
MSA CW3 An3 C_1	70	25	8	4	0
Beltsville 3 An4 C_1	33	150	22	14	2
nombre	131	327	42	27	20
pourcentage	24,0	59,8	7,7	4,9	3,6
Forte sensibilité (*highly sensitive*)					
S 51	0	0	7	30	164
S 30	0	0	3	40	145
S_2 67	0	0	5	22	156
nombre	0	0	15	92	465
pourcentage	0	0	2,6	16,1	81,3
Tolérance moyenne à faible (*mean to low tolerance*)					
Vertus V_3	19	33	12	16	59
Europe C_1	6	69	62	50	52
nombre	25	102	74	50	82
pourcentage	7,5	30,7	22,2	15,0	24,0
Tolérance moyenne à forte (*mean to high tolerance*)					
Vernal C_1	7	98	39	39	20
Verneuil C_3	23	86	53	29	23
nombre	30	184	103	68	43
pourcentage	7,0	43,0	24,1	15,9	10,0

populations C_0 à très faible niveau de tolérance sont très mal triées, une seconde inoculation lorsqu'elle est physiologiquement possible rendrait alors de grands services.

Malgré la grande similitude de données expérimentales et théoriques, cette explication n'est pas complètement satisfaisante pour trois raisons :

1. GONDRAN et GENIER ont observé des variétés très sensibles comme « Maris Phoenix » 0,7 p. 100 de tolérance, « Sabilt » ... ce qui implique un excellent taux d'inoculation de l'ordre de 0,99 au moins. Des phytopathologistes comme GONDRAN et RAYNAL considèrent de plus que la technique employée a peu de chances de laisser des plantes non-contaminées.

2. La comparaison des courbes réelle et théorique montre un gain plus important que prévu pour les variétés sensibles (malgré l'introduction dans les populations C_0 sélectionnées de plantes notées 2 et 3 pour assurer le passage à la génération suivante C_1), et plus faible que prévu pour les variétés tolérantes avec même peut-être un plafonnement dans le progrès vers 90 p. 100 de plantes tolérantes. Tout se passe comme s'il y avait un très faible taux de plantes non-identifiées, non-contaminées de l'ordre de 1 p. 100 dans les variétés sensibles et un très fort pourcentage de l'ordre de 50 p. 100 dans les variétés résistantes.

3. Dans les variétés vraiment très sensibles, les plantes génétiquement résistantes, notées 1 ou 2 sont très rares (tabl. 7) et d'autre part, les plantes non-contaminées ne peuvent se ranger, sauf erreur que dans la catégorie 1, sans symptôme, nous devrions alors observer plus de plantes notées 1 que de plantes notées 2. Ce n'est jamais le cas.

Dans cette seconde hypothèse, nous avons supposé une dominance complète ; les conclusions restent les mêmes pour une dominance incomplète où les C_0, après tri, contiendraient les A_4 et x p. 100 de A_3, x p. 100 de A_2 ... de A_0.

En résumé :

Un gène de résistance, quel que soit son degré de dominance, que l'inoculation soit complète ou partielle (avec un taux constant, indépendant du génotype) n'explique pas complètement les résultats expérimentaux.

Une conclusion s'impose à l'esprit. L'identification des génotypes les plus tolérants est meilleure chez des variétés sensibles que chez des variétés tolérantes. L'inoculation est toujours très bonne (cf. variétés très sensibles) mais la réaction, la réponse à cette inoculation varie avec le génotype de la Luzerne et de la souche de *Colletotrichum*.

C. — *3e hypothèse*

Un seul gène contrôle la résistance. Même bien contaminé, un génotype peut s'exprimer dans la même expérience sous différents phénotypes.

A la lumière des variations de notations d'un essai à l'autre, un génotype ne donne pas toujours le même phénotype, ainsi un génotype résistant sera noté 1 ou 2 (tabl. 1, cf. MSA CW3 An3), un génotype sensible sera noté 5, 4 même 3 (cf. « Europe »).

L'examen de la répartition des notes tableau 7 est très instructif :

— Les familles très tolérantes sont au mieux fixées AAAA (A_4), c'est-à-dire

TABLEAU 8

Tableau de correspondance du génotype au phénotype pour la tolérance au Colletotrichum trifolii (en pourcentage)

Correspondance between genotype and phenotype for tolerance to Colletotrichum trifolii (percentages)

	Phénotype	Génotype				
		A_4	A_3	A_2	A_1	A_0
sans symptôme (*no symptoms*)	1	> 65 } > 84			< 10 } < 40	0
points nécrotiques (*necrotic flecks*)	2					ε
nécrose large (*extensive necrosis*)	3					< 3
une tige flétrie (*one wilted stem*)	4	< 5	< 50			> 95
plante morte (*dead plant*)	5	< 4	< 10			> 80

que le génotype A_4 est noté soit 1, soit 2 dans 84 p. 100 des cas (il est vraisemblablement noté 1 dans au moins 65 p. 100 des cas, exemple MSA CW3 An3 C_1).

— Les familles très sensibles sont au pire fixées aaaa (A_0) sur les 572 plantes observées aucune n'est notée 1 ou 2, et 15 plantes sont notées 3. Nous pouvons en conclure que le génotype A_0 n'est jamais noté 1 ou 2, mais 5 (plante morte) dans au moins 80 p. 100 des cas.

Nous pouvons remarquer que la note 3 n'apparaît que dans 3 à 8 p. 100 des cas, donc rarement pour des populations bien typées sensibles ou tolérantes. Or l'examen des variétés intermédiaires montre des taux importants 20 à 25 p. 100 de note 3, ce phénotype intermédiaire ne peut donc pas provenir des seuls génotypes A_1 et A_0, il provient préférentiellement des génotypes A_3, A_2 ou A_1.

D'après RAYNAL, la note 3 peut être dans certaines conditions une note transitoire et ceci pourrait rendre plus critiquable l'argumentation. En réalité, si la fréquence des notes 3 peut être modifiée par les modalités de l'inoculation artificielle, la période de lecture, elle n'a aucune raison d'être modifiée par le niveau général de tolérance de la famille dans les conditions de ces essais.

En conclusion, il est impossible d'expliquer cette forte proportion de type 3 dans les variétés intermédiaires avec seulement deux niveaux de tolérance, deux types de réponse, c'est-à-dire avec une dominance complète ou à seuil. Il y a donc obligatoirement un niveau génétique intermédiaire de tolérance. Dans le cas d'un seul gène en cause, cela implique nécessairement une *dominance incomplète*.

Nous pouvons composer un tableau de correspondance génotype et phénotype (tabl. 8, fig. 5) dont certains éléments sont inconnus ou hypothétiques.

Est-ce que nous pouvons interpréter maintenant plus complètement les résultats expérimentaux ?

Une variété très sensible contiendra surtout des génotypes A_0 et quelques A_1 et A_2 (tabl. 9). Nous sélectionnerons les meilleures, c'est-à-dire les plantes notées 3 et les exceptionnelles plantes notées 2 et 1 qui ne peuvent provenir que des géno-

TABLEAU 9

Structure d'une population panmictique en fonction de la fréquence allélique

Structure of a panmictic population as a function of allelic frequency

		A_0	A_1	A_2	A_3	A_4
	q	q^4	$4pq^3$	$6p^2q^2$	$4qp^3$	p^4
variété	0,997 5	99	1	0	0	0
très →	0,974	90	9,6	0,4	0	0
sensible	0,915	70	26	4	ε	0
	0,841	50	37,8	10,6	1,6	ε
	0,75	31,6	42,2	21,1	4,7	0,4
	0,562	10	31,2	36,3	18,9	3,7
	0,438	3,7	18,9	36,3	31,2	10
variété						
résistante →	0,25	0,4	4,7	21,1	42,2	31,6
	0,085	0	ε	4	26	70

types A_1 et surtout A_2. La discrimination sera bonne, la descendance C_1 a toute chance de donner un grand étalement des notes de 1 à 5 avec moins d'un quart de génotype A_0 et moins d'un quart de génotypes A_4 et A_3.

Ceci est compatible avec les résultats expérimentaux concernant les générations C_1 issues de populations sensibles (tabl. 7).

— Une variété très tolérante contiendra des génotypes A_4, A_3 et quelques A_2, il y aura une majorité de plantes notées 1 et 2 et peu de 3, 4 et 5 (guère plus de 15 p. 100). Les notes 1 et 2 sont peu discriminantes : la distinction phénotypique est difficile, les conditions expérimentales font facilement passer de l'une à l'autre (tabl. 1). Il est vraisemblable que les notes 1 et 2 peuvent correspondre tant au génotype A_4 que A_3. Le tri est médiocre, le taux de plantes mal-identifiées doit être fort, le progrès génétique ne peut être que faible.

En résumé :

Dans les plantes retenues en C_0 pour le cycle suivant tout se passe comme s'il y avait plus de plantes mal-identifiées dans les variétés résistantes que dans les variétés sensibles, ce qui est conforme aux résultats expérimentaux (tabl. 2, 6, 8, fig. 5). Il est difficile d'aller plus loin sans une connaissance plus précise du tableau 8 et sans études génétiques supplémentaires. *Un gène de résistance à dominance incomplète et à expression phénotypique variable* est l'hypothèse la plus simple rendant compte des résultats expérimentaux.

D. — *Intérêt des notes 1 et 2*

Compte tenu de la difficulté de distinguer les phénotypes note 1 et note 2, et de l'intérêt agronomique vraisemblablement limité de cette différence dans la tolérance est-il utile de les distinguer au cours de la sélection ?

Nous avons deux éléments de réponse. Le choix des seules plantes notées 1 amène toujours un progrès, même chez les variétés très tolérantes, ce n'est pas toujours le cas des plantes 2 (tabl. 10). Ceci est certainement généralisable car le tri des plantes 1 dans les générations de départ C_0 avait été médiocre au cours de l'expérience 1 (tabl. 1). L'examen des deux droites de régression entre la valeur des plantes-mères et la valeur de la descendance (fig. 1) permet de mesurer le progrès génétique amené par le choix de plantes notées 1 plutôt que 2. Il est important dans le cas des variétés sensibles à moyennement tolérantes : dans les conditions expérimentales des essais décrits ici, les plantes notées 1 ont une descendance de note moyenne 2, 4 et les plantes notées 2 ont une descendance de note moyenne 3,15.

En conclusion, nous avons toujours intérêt à ne retenir que des plantes 1, mais cela peut poser des problèmes d'effectif. D'une manière générale, il est possible de trier à phénotype constant (plantes notées 1 par exemple) ou à coefficient de sélection constant.

Quelle est la meilleure méthode pour améliorer la tolérance à *Colletotrichum trifolii* ?

Nous savons que le choix des seules plantes 1 permet d'atteindre en un cycle de sélection massale intrafamiliale un très bon niveau de tolérance ; nous savons également que les plantes 1 et même 2 peuvent être très rares de l'ordre de 10^{-3} dans certaines populations (tabl. 7 et 9). Le choix des seules plantes 1 nécessiterait de gros effectifs.

Aussi pour des populations C_0 présentant quelques pour 100 de plantes notées 1, le sélectionneur ne retiendra que celles-ci. Mais pour des populations très sensibles au Colletotrichum, il est préférable, pour ne pas trop biaiser la population et pour ne pas aboutir à des effectifs à tester trop importants, d'appliquer un coefficient de sélection constant. Il conviendra de retenir les 30 plantes les plus tolérantes notes 2 et 3 ; dans ces conditions, sans travail excessif, deux cycles de sélection doivent permettre d'atteindre un très bon niveau de tolérance.

TABLEAU 10

Effet de la sélection de plantes notées 1 ou 2 sur le progrès génétique en un cycle de sélection massale pour la tolérance au Colletotrichum trifolii

Effect of selection of plants noted 1 or 2 on genetic progress from one cycle of mass selection for tolerance to Colletotrichum Trifolii

	Phénotype (note de 1 à 5)					$\bar{X}$
	1	2	3	4	5	
MSA CW3 An3						
C_0	27	64	1	3	5	1,95
C_1 de note 1	65	23	8	4	0	1,40
C_1 de note 2	7	70	11	4	8	2,36
Beltsville 1 An4						
C_0	11	65	3	4	14	2,40
C_1 de note 1	13	68	6	4	8	2,26
C_1 de note 2	8	82	4	5	1	2,10
Vertus						
C_0	6	14	7	21	52	4,00
C_1 de note 1	20	58	8	4	12	2,29
Moapa, Vernal C_0						4,06
C_1 de note 1 et 2						2,80

Cette méthode, si elle ne permet pas toujours le gain maximum en un cycle est certainement la meilleure si nous introduisons le facteur travail.

ESSAI D'INTERPRÉTATION GRAPHIQUE

Nous pouvons considérer que le phénotype $\vec{Ph}$ résulte de deux composantes : le génotype $\vec{G}$ et le milieu $\vec{M}$ (fig. 2). Les effets dus au milieu et au génotype sont caractérisés par une moyenne $\overline{x_M}$ et $\overline{x_G}$ et une variance S_M^2 et S_G^2 nous pouvons les

porter sur deux axes perpendiculaires. A une même projection sur cette bissectrice correspondront des phénotypes de même valeur tels que

$$\overline{Ph} = \frac{I}{\sqrt{2}} (\overline{G} + \overline{M})$$

Cette droite de projection, perpendiculaire à la bissectrice, coupe les deux axes aux points $(O, \overline{G} + \overline{M})$ et $(\overline{G} + \overline{M}, O)$. En résumé, la projection du vecteur $\vec{Ph} = \vec{G} + \vec{M}$ sur les deux axes orthogonaux et leur bissectrice intérieure permet de représenter, d'étudier les effets dus au milieu, au génotype et leur résultante le phénotype (fig. 2).

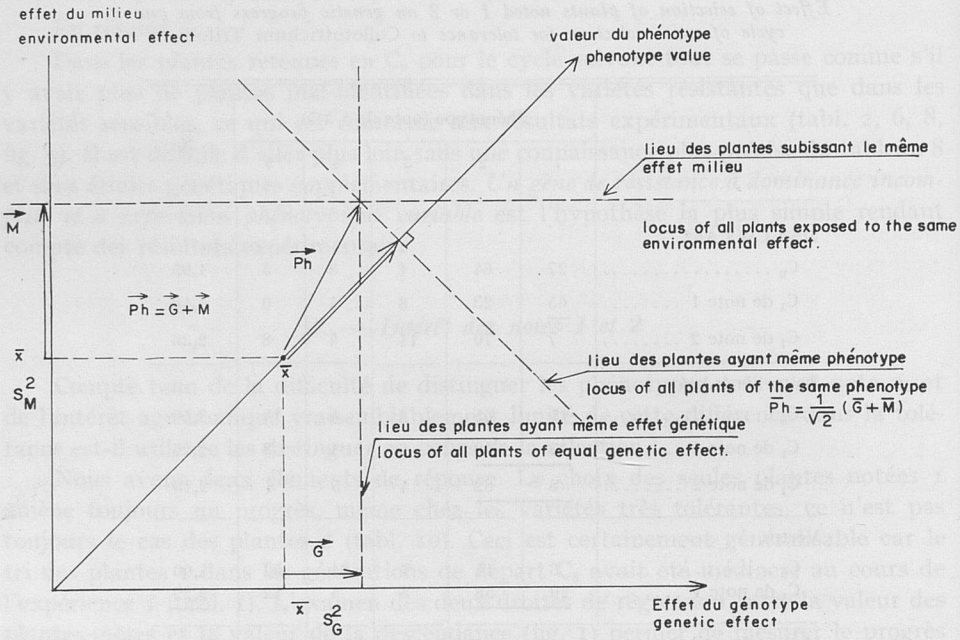


FIG. 2. — *Représentation graphique de la valeur génotypique, phénotypique, des effets milieux pour une plante ou une population*

Graphic presentation of genotype, phenotype and environmental effects for a plant or a population

Le choix de l'échelle sur les axes : données naturelles, logarithmiques... permet de considérer des effets dus au milieu et au génotype additifs, multiplicatifs... En général, même si les effets suivent des lois approximativement normales, ils sont bornés.

Le tri du sélectionneur porte seulement sur des phénotypes, il est donc intéressant de savoir à quels génotypes, ils correspondent ; la figure 3 représente la gamme des effets de milieu et génotypiques correspondants. Nous constatons que le choix d'un phénotype entraîne la sélection des effets génétiques et des effets de milieu de manière symétrique. Choisir les meilleurs phénotypes correspond toujours au choix des plantes ayant les meilleures conditions de milieu ; la descendance retom-

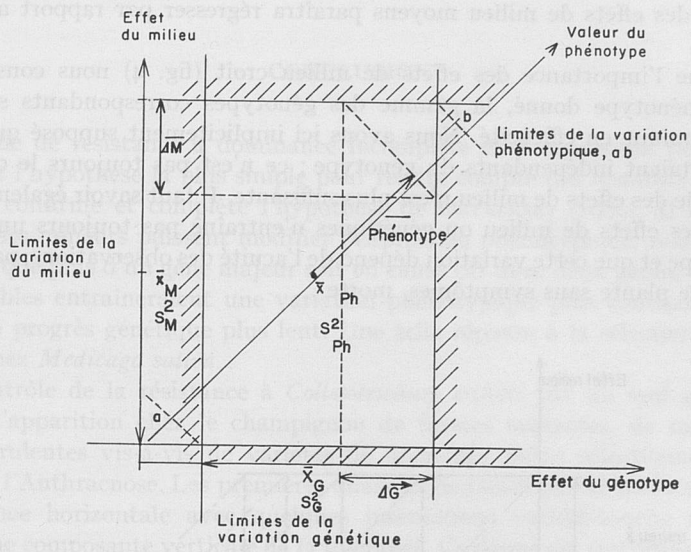


FIG. 3. — *Représentation graphique*

— des bornes de la variation du milieu, du génotype et des phénotypes résultants.

— des variations de milieu $\overrightarrow{\Delta M}$ et de génotype $\overrightarrow{\Delta G}$ attachées à un seul phénotype $\overline{Ph}$.

Graphic presentation

— bounds of variation in environmental and genetic effect and of resultant phenotype.

— variation of environmental $\overrightarrow{\Delta M}$ and genetic $\overrightarrow{\Delta G}$ effects for a given phenotype $\overline{Ph}$.

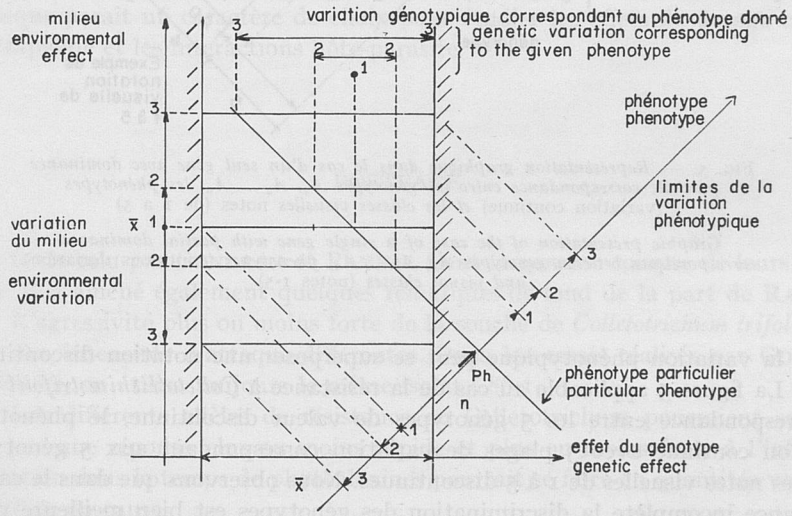


FIG. 4. — *Variation génotypique de la population sélectionnée, correspondant à un phénotype donné en fonction de l'importance des effets de milieu*

Genetic variation, in a selected population, associated with a given phenotype as a function of the amplitude of environmental effects

bant dans des effets de milieu moyens paraîtra régresser par rapport aux parents retenus.

Lorsque l'importance des effets de milieu croît (fig. 4) nous constatons que pour un phénotype donné, la gamme des génotypes correspondants s'accroît, la sélection diminue en efficacité. Nous avons ici implicitement supposé que les effets de milieu étaient indépendants du génotype ; ce n'est pas toujours le cas, alors la loi marginale des effets de milieu n'est plus suffisante. Il faut savoir également qu'une variation des effets de milieu ou génétiques n'entraîne pas toujours une variation du phénotype et que cette variation dépend de l'acuité des observations, par exemple : notations de plante sans symptômes, morte ...

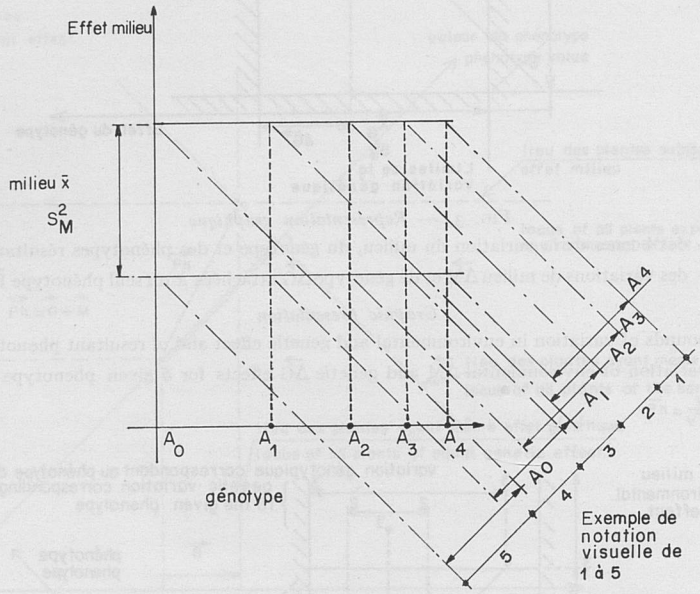


FIG. 5. — *Représentation graphique dans le cas d'un seul gène avec dominance partielle correspondance entre les génotypes* A_4, A_3 .... A_0, *les phénotypes* (variation continue) *et les classes visuelles* notes (de 1 a 5)

Graphic presentation of the case of a single gene with partial dominance correspondence between genotypes A_4, A_3 .... A_0, *phenotypes* (continous variation) *and visual classes* (notes 1-5)

A la variation phénotypique peut se superposer une notation discontinue par classe. La figure 5 applicable au cas de la résistance à *Colletotrichim trifolii* montre la correspondance entre les 5 génotypes de valeur discontinue, le phénotype de variation continue avec 5 plages de variation correspondant aux 5 génotypes et enfin les notes visuelles de 1 à 5 discontinues. Nous observons que dans le cas d'une dominance incomplète la discrimination des génotypes est bien meilleure pour les notes 5 et 4 que pour les notes 1, 2, 3 (fig. 5), ce qui est conforme aux résultats expérimentaux.

CONCLUSION

Un gène de résistance à dominance incomplète et à expression phénotypique variable est l'hypothèse la plus simple pour rendre compte des résultats expérimentaux. Ceci confirme et complète l'hypothèse de OSTAZESKI (1969). Il est possible que des gènes mineurs puissent modifier l'expression phénotypique, mais il y a peu de chances que plus d'un gène majeur soit en cause car avec deux gènes, les 25 génotypes possibles entraîneraient une variation phénotypique plus continue et probablement un progrès génétique plus lent. Une telle réponse à la sélection est exceptionnelle chez *Medicago sativa*.

Le contrôle de la résistance à *Colletotrichum trifolii* par un seul gène accroît le risque d'apparition chez le champignon de formes mutantes, de races physiologiques virulentes vis-à-vis de variétés de *Medicago sativa* sélectionnées pour la tolérance à l'Anthracnose. Les premières analyses de GONDRAN et RAYNAL montrent une tolérance horizontale avec quelques interactions variété-souche mettant en évidence une composante verticale de la tolérance. Ce risque est réel puisque GRAHAM (1974) a signalé la découverte d'une souche de *C. trifolii* attaquant les familles U. S. les plus tolérantes. Il paraît prudent, pour limiter les risques et favoriser la sélection de formes de tolérance horizontale, de créer des variétés synthétiques de Luzerne dont la tolérance résulte de la combinaison d'allèles de résistance d'origines différentes et indépendantes, ce qui est possible en faisant au préalable une sélection massale intrafamiliale et en variant les souches de *C. trifolii* utilisées en inoculation artificielle.

La résistance à *Colletotrichum trifolii* chez *Medicago sativa* outre son importance économique paraît un caractère de choix pour étudier les effets de dosage chez un autotétraploïde et les interactions hôte-parasite.

POSTFACE

Ce texte relu par GONDRAN et RAYNAL tient largement compte de leurs observations. Il a amené également quelques remarques de fond de la part de RAYNAL :

— L'agressivité plus ou moins forte de la souche de *Colletotrichum trifolii* peut amener des intensités d'attaque différentes. Dans les essais réalisés par GONDRAN et décrits ici, on utilisa toujours le même isolat C86-1.

— Les différents allèles de résistance au Colletotrichum pourraient se différencier par une réponse plus ou moins rapide et plus ou moins forte à l'infection. La libération dans le temps de phytoalexines pourrait se faire en quantités variables selon l'allèle en cause.

— La synthèse de phytoalexines pourrait être sous la dépendance des facteurs du milieu : nutrition de la plante, éclairement, température, humidité, nature de l'isolat de Colletotrichum.

— La note 3 : nécroses larges sur les tiges, éventuellement acervule mais sans flétrissement de la tige, est certainement une note évolutrice, transitoire. Elle pourrait devenir 4 ou même 5 (flétrissement plus ou moins prononcé) après un temps plus long d'incubation.

Reçu pour publication en mars 1975.

SUMMARY

GENETIC CONTROL OF TOLERANCE TO *COLLETOTRICHUM TRIFOLII* IN *MEDICAGO SATIVA* L.

Experiments carried out at Lusignan by J. GONDRAN and G. GENIER are interpreted. The very rapid progress in tolerance to anthracnose through mass selection poses a very interesting genetic study.

Experimental conditions

Experiments are conducted at Lusignan in growth cabinets at 24°C, 17 000 lux and high relative humidity. Age, plant density, strain and environmental conditions modify the intensity of the attack. It is difficult to associate a genotype and a phenotype but a certain discontinuity in note distribution and in phenotypic expression enabled an initial approximate separation of sensitive and tolerant plants.

Proposed genetic interpretation

As early as 1969 OSTAZESKI concluded that few genes were involved, perhaps only one with partial dominance. In 1974 CAMPBELL concluded that there was only one dominant gene inherited tetrasomically. We have considered the results of mass selection within twenty varieties of diverse origin with respect to tetrasomic control with a single gene, making various hypotheses :

— an allele with complete, threshold or partial dominance ;
— complete or partial innoculation.

The existence of intermediate phenotypes and comparison of theoretical and observed responses to selection lead to the elimination of all hypotheses except that of one incompletely dominant allele of variable phenotypic expression.

These results confirm the hypothesis of OSTAZESKI. CAMPBELL's different conclusion may be explained by a low intensity attack ; at this level of attack the allele may appear as completely dominant.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

CAMPBELL T. A. *et al.*, 1974. Inheritance of resistance to anthracnose in Alfalfa. *Crop. Sci.*, **14**, 667-668.

CLAVIER Cl., 1973. (Données non publiées).

DEMARLY Y., 1963. Génétique des tétraploïdes et amélioration des plantes. *Ann. Amélior. Plantes*, **13**, 307-400.

DEVINE T. E. *et al.*, 1971. Selection for resistance to Anthracnose (*Colletotrichum trifolii*) in four Alfalfa populations. *Crop. Sci.*, **11** (6), 854-855.

GENIER G., 1973. (Données non publiées).

GONDRAN J., 1973. (Données non publiées).

GONDRAN J., MAINER CASADO A., 1973. Inoculation artificielle de la luzerne avec *Colletotrichum trifolii* BAIN et ESSARY. Classement de 19 cultivars de Luzerne suivant leur résistance au parasite. *Ann. Amélior, Plantes*, **23**, 367-379.

GUY P., GENIER G., 1973. Aspects de la sélection pour la tolérance au Verticillium de *Medicago sativa Eucarpia, Medicago sativa*. Kompolt 49-59.

OSTAZESKI S. A. *et al.*, 1969. Laboratory selection of Alfalfa for resistance to Anthracnose, *Colletotrichum trifolii*. *Crop Sci.* **9**, 351-354.

RAYNAL G., 1974. Le Colletotrichum de la luzerne en France. 15 p. *Journées Luzerne*, Lusignan.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (2), 235-263.

AMÉLIORATION GÉNÉTIQUE DU POIS D'HIVER

R. COUSIN

avec la collaboration technique de Véronique Schweisguth, P. Michaud, M. Audren et G. Lietout

Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes,
Centre national de Recherches agronomiques, I. N. R. A.,
78000 Versailles

RÉSUMÉ

La résistance au froid de certaines variétés de pois fourrager d'hiver : « Haute-Loire » et « Champagne » a été transférée au pois potager. Il a été possible d'obtenir des lignées, résistantes au froid, possèdant les qualités gustatives et technologiques comparables aux pois de printemps. Récolté au stade frais, ce nouveau matériel fournit aux industriels un gain de précocité d'une dizaine de jours ainsi qu'une augmentation des rendements de 40 p. 100 avec une répartition des calibres comparable à celle de la variété précoce de printemps « Aldot ».

En ce qui concerne la tendreté et les substances insolubles dans l'alcool, leur évolution est comparable à celle des pois de printemps. Deux variétés « Frimas » et « Frogel » sont actuellement inscrites au Catalogue officiel, deux autres de précocité différente sont en cours d'inscription afin de pouvoir obtenir une production continue, et sans interruption entre les récoltes de pois d'hiver et celles des pois de printemps.

L'analyse de l'évolution de la maturité en fonction des dates de semis sur plusieurs années permet de préciser les sommes de températures nécessaires pour atteindre un indice tendérométrique donné, à partir d'une époque de semis connue. Ces connaissances facilitent le choix des dates de semis de printemps afin d'obtenir un approvisionnement continu des usines.

Au stade sec, ces nouvelles variétés de pois d'hiver manifestent une productivité supérieure et plus régulière que les pois de printemps. Dans certaines conditions, les rendements peuvent atteindre 60 q/ha, en particulier dans l'ouest de la France et la vallée du Rhône. La teneur en protéines est comparable à celle des pois de printemps. La composition en acides aminés voisine de celle du Soja, et même légèrement plus riche en lysine, laisse penser que ce nouveau matériel pourra fournir, dans l'avenir, une source importante de protéines pour la complémentation des aliments du bétail.

INTRODUCTION

L'introduction de la résistance au froid dans les variétés de pois potager permet de créer un nouveau matériel végétal qui contribuera à résoudre deux problèmes agronomiques importants : l'étalement des récoltes des pois destinés aux conserveries et la production d'un composant d'aliment du bétail riche en protéines.

Le pois appertisé représente plus de 40 p. 100 du chiffre d'affaires des conserves de légumes, soit environ 15 p. 100 des conserves alimentaires. Il constitue le produit de base des industries de la conserve et nécessite une mécanisation très poussée et de grands investissements. Pour augmenter la rentabilité, les industriels cherchent à allonger la période de récolte de préférence en début de campagne, car d'autres espèces en particulier les haricots succèdent aux pois. Pour satisfaire les industriels, les sélectionneurs, depuis de nombreuses années, ont essayé de créer des variétés plus précoces que celles déjà existantes. De nombreuses variétés hâtives ont été inscrites au cours des quinze dernières années. Elles marquent un progrès incontestable pour la précocité mais n'ont pas connu le développement auquel on aurait pu s'attendre.

En effet, il est difficile de sélectionner d'une part pour la précocité et d'autre part pour le rendement et la finesse des grains, très recherchés par les industriels et les agriculteurs en raison du système de financement en vigueur jusqu'à maintenant. Seules quelques variétés, un peu moins précoces mais fournissant de bons rendements en sortes fines comme « Aldot », ont trouvé un développement important.

Par la méthode des croisements diallèles nous avons étudié la précocité et obtenu des géniteurs qui fleurissent au 5e nœud, plus précoces que toutes les variétés inscrites actuellement au Catalogue officiel. Cet effort de sélection ne permet néanmoins qu'un gain de précocité de deux ou trois jours. L'amélioration pour ce caractère apparaît donc de plus en plus difficile et la réduction du cycle végétatif présente certainement des limites. Par contre, l'obtention de variétés d'hiver résistantes au froid constitue une nouvelle voie de sélection qui contribuera à l'allongement de la période de récolte des pois frais.

Par ailleurs, les industriels produisant les aliments équilibrés pour le bétail recherchent de nouvelles sources de protéines. Les légumineuses : le Pois en particulier, ont en général une teneur élevée en protéines et pourraient se substituer en partie aux tourteaux de soja nécessaires à la complémentation des céréales. L'espèce Pois est très diversifiée. Le groupe des pois potagers paraît mieux adapté à une production de pois secs, que celui des pois fourragers qui a été sélectionné pour une utilisation en fourrage vert pouvant éventuellement faire un excellent ensilage. Mais dans la conjoncture économique actuelle, les rendements des légumineuses à graines ne sont pas suffisamment élevés pour intéresser les agriculteurs. Les pois d'hiver, qui donnent une productivité nettement supérieure aux pois de printemps, fourniront certainement une nouvelle source de protéines.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

La méthode consiste à étudier le comportement des différents types variétaux de pois pendant l'hiver afin de trouver une source de résistance au froid puis à introduire ce caractère dans les variétés de pois potager.

Jusqu'à ces dernières années les variétés de pois potager étaient sensibles au froid. Leur culture ne reste possible en hiver que dans le sud de la France où ils fournissent les pois primeurs destinés au marché frais. Mais, même dans cette zone, on peut observer des dégâts provoqués par des gelées matinales.

Dans les autres régions, chaque variété de printemps, semée à l'automne, présente un comportement particulier. Les variétés précoces comme « Obéron », « Mignon » et celles à entre-nœuds

longs de type « Aldot » disparaissent aux premières gelées. Les variétés tardives semblent plus résistantes. Parmi elles, « Anik », « Gontier Vert » présentent le meilleur comportement. On peut signaler également « Rondo », « Starnain », « Unica », « Michaux de Paris » et « Roi des Halles ». Lorsque l'hiver n'est pas trop rigoureux, un pourcentage de plantes non négligeable subsiste jusqu'au printemps. Mais ce taux n'est pas suffisant pour en conseiller la culture ni même pour justifier d'un programme de sélection.

Seules quelques variétés fourragères d'hiver présentent une résistance au froid acceptable. Ces variétés ont été sélectionnées pour une production élevée de fourrage vert. Les plantes sont à rames, à fleurs colorées en rouge violacé et à petites gousses. Les téguments des graines présentent une coloration en liaison avec celle de la fleur et contiennent des tanins qui communiquent au grain frais une amertume prononcée. D'autre part les rendements en grains secs sont inférieurs à ceux des pois potagers. Ce matériel végétal n'est donc pas utilisable directement en conserverie ou en alimentation du bétail. Il convient donc de transférer la résistance au froid dans les variétés de pois potagers. Ce transfert a été tenté depuis environ une dizaine d'années par de nombreux sélectionneurs. La variété « Austria Winter » semble être le principal géniteur retenu.

Les essais de comportements effectués à Versailles ont révélé que des pois sauvages, poussant à l'état spontané dans le Massif Central, récoltés par M. Kerguelen à Saint-Mamet, Ytrac et Allenc, possèdent une bonne résistance au froid ainsi que quelques variétés de pois fourragers : « Haute-Loire » et « Champagne ». Ces deux dernières, qui résultent d'un travail d'amélioration des plantes fourragères effectué à l'I.N.R.A., d'abord par J. Rebischung, puis par M. Lenoble, possèdent un comportement satisfaisant aux conditions climatiques de notre région.

Nous avons essayé de transférer leur résistance au froid dans deux variétés de printemps « Serpette nain cent pour un » et « Vitalis », l'une lisse, l'autre ridée, alors choisies en raison de leur valeur agronomique.

Ce travail de sélection a commencé en 1964 et les premières plantes F_2 ont été jugées au cours de l'hiver 1965-1966. Nous avons étudié le comportement d'environ 5 000 plantes F_2 et examiné 800 lignées F_3. Une très forte pression de sélection a été exercée sur les descendances de ces lignées. Actuellement la pépinière ne comprend plus que des familles issues de 14 lignées F_3 différentes.

Deux variétés sont déjà inscrites au Catalogue officiel, « Frimas » à graines lisses et « Frogel » à graines ridées, trois autres sont en cours d'inscription.

Les meilleures lignées sont expérimentées dans différentes régions grâce à la collaboration des Stations d'amélioration des plantes et du Service d'Expérimentation et d'Information (S.E.I.), de l'I.N.R.A., de l'Union nationale interprofessionnelle des Légumes de Conserve (U.N.I.L.E.C.), de plusieurs Centres d'Études techniques agricoles (C.E.T.A.) et de l'Institut technique des Céréales et des Fourrages (I.T.C.F.).

RÉSULTATS

Niveau de résistance des nouvelles lignées de pois d'hiver

Il est difficile de fixer avec précision le niveau de résistance au froid, car celui-ci dépend du stade de la plante et des conditions climatiques qui précèdent la vague de froid.

Si la jeune plante effectue sa croissance à des températures relativement douces, ce qui peut se produire lorsqu'on effectue un semis trop tôt, par exemple fin septembre dans la région parisienne, on constate que la plante acquiert, au cours de l'automne, un développement végétatif trop important. Au mois de décembre, les feuilles ont presque les dimensions de celles de pois de printemps. Dans ces conditions, les plantes sont plus sensibles aux gelées. On peut observer, après une vague de froid, des dégâts sur la partie subterminale des tiges. Si les dommages ne sont pas trop importants, les yeux de la base de la tige donnent de nouvelles ramifications.

Si au contraire la plantule se développe à l'automne, à des températures inférieures à 10°C, les feuilles restent petites et plusieurs ramifications prennent nais-

sance à la base de la tige. La plante prend alors l'aspect d'une rosette. Dans ces conditions elle acquiert un certain endurcissement et peut alors supporter sans dommage des températures relativement basses (fig. 1). Les minimums thermiques sont apparus

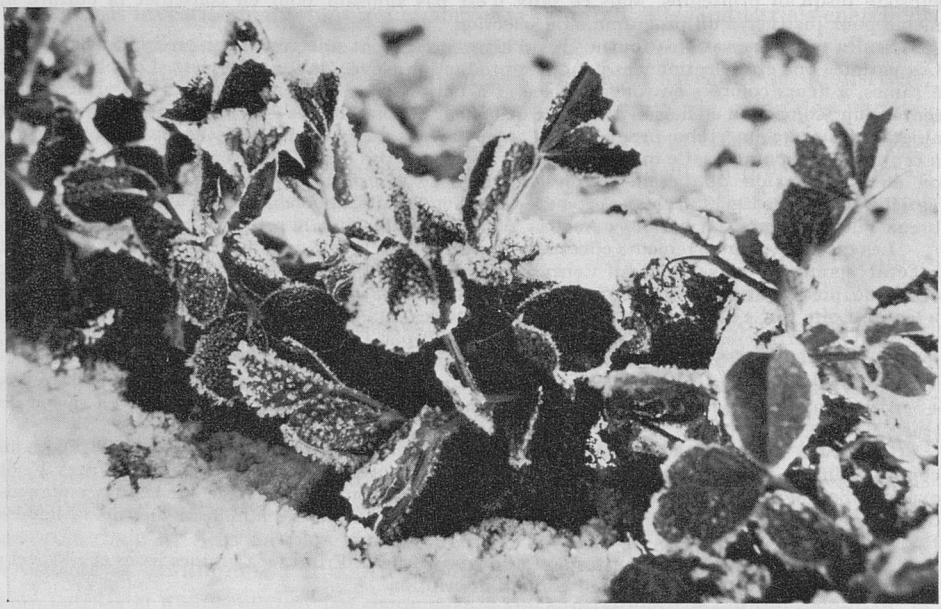


FIG. 1. — *Jeunes plantes de pois recouvertes de givre*

TABLEAU I

Températures minimales enregistrées au cours de l'hiver 1970-71

	Première période de gel	Minima observés	Deuxième période de gel	Minima observés
	Décembre 1970 - Janvier 1971		Février-Mars 1971	
Versailles	du 22-12 au 11-1	—7°C sans neige —15°C avec neige —24°C au sol avec neige	du 23-2 au 9-3	—11°C avec un peu de neige
Dijon	du 17-12 au 13-1	—14°C sans neige —25°C avec neige	du 28-2 au 10-3	—15°C sans neige
Perpignan	du 17-12 au 11-1	—8°C sans neige	du 2-3 au 13-3	—10°C sans neige floraison des variétés précoces de printemps

au cours de l'hiver 1970-1971 avec —15°C sans neige, —20°C avec neige à Dijon (tabl. 1). On a aussi enregistré —10°C sans neige à Perpignan en mars 1971 à un stade relativement avancé, proche de la floraison. Les variétés précoces de printemps,

utilisées comme témoin dans le même semis d'automne, arrivées au stade floraison, ont complètement disparu. On peut signaler également qu'une sélection naturelle s'est effectuée au niveau des plantes F_2 lorsque la température est descendue à —17°C avec neige en janvier 1966.

Gains de précocité et de rendement obtenus avec les pois d'hiver récoltés au stade frais

Actuellement nous disposons de cinq années d'expérimentation qui confirment les aptitudes de ce nouveau matériel. L'étude porte sur la variété d'hiver « Frimas » et la variété précoce de printemps la plus cultivée « Aldot ».

La récolte des pois se faisant mécaniquement, en une seule fois, donne inévitablement un produit hétérogène. En effet les grains issus des gousses situées à la partie supérieure de la plante sont plus petits et plus jeunes que ceux des gousses apparues à un niveau inférieur. Pour évaluer la productivité d'une variété, il convient donc d'effectuer des récoltes échelonnées correspondant à des stades différents de maturité afin de suivre l'évolution de la répartition des calibres d'une part et leur âge physiologique d'autre part. Nous avons constaté antérieurement que l'âge d'un produit pouvait être évalué par la teneur en eau, la teneur en substances insolubles dans l'alcool ou plus simplement l'indice tendérométrique (Cousin, 1973). L'indice tendérométrique traduit la tendreté du produit récolté. Il est fourni par un appareil appelé tendéromètre et correspond à la pression (exprimée en livre par pouce carré)

TABLEAU 2

Gains de rendement et de précocité obtenus avec « Frimas » par rapport à « Aldot »

	Indice tendérométrique 100			Indice tendérométrique 140		
	Rendements en q/ha		Gain de précocité en nombre de jours	Rendements en q/ha		Gain de précocité en nombre de jours
	« Frimas »	« Aldot »		« Frimas »	« Aldot »	
1970	70	45	8	80	55	8
1971	30	17	9	45	25	10
1972	40	35	15	70	40	13
1973	50	30	4	75	60	3
1974	58	45	11	85	75	10
Rendement moyen sur 5 ans	49,6	35,4	—	71,0	51,0	—
Augmentation des rendements par rapport à « Aldot »	40 %	—	—	40 %	—	—
Gain de précocité en jours	—	—	9,4	—	—	8,8

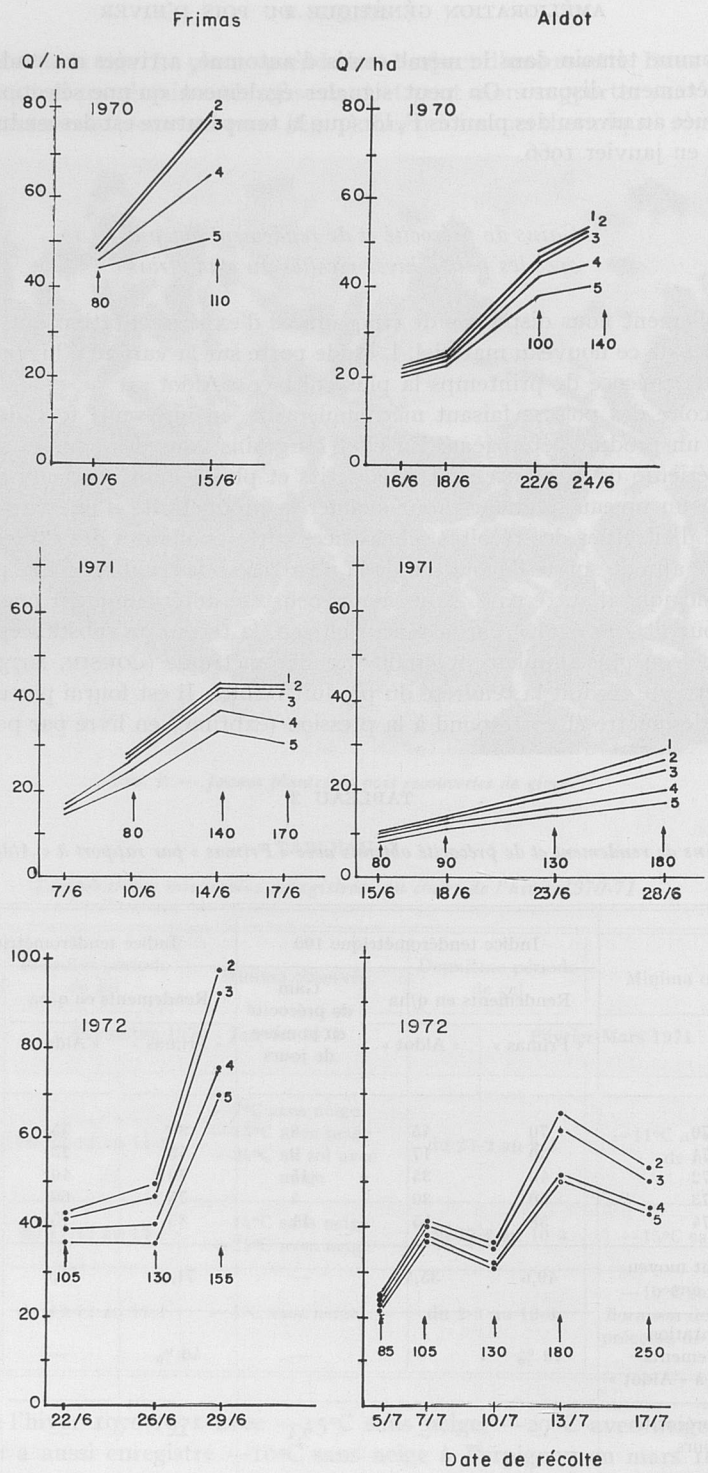

Frimas
Aldot
Q / ha
Q / ha
1970
1970
1971
1971
1972
1972
80
110
100
140
80
140
170
80
90
130
180
105
130
155
85
105
130
180
250
10/6
15/6
16/6
18/6
22/6
24/6
7/6
10/6
14/6
17/6
15/6
18/6
23/6
28/6
22/6
26/6
29/6
5/7
7/7
10/7
13/7
17/7
Date de récolte

FIG. 2

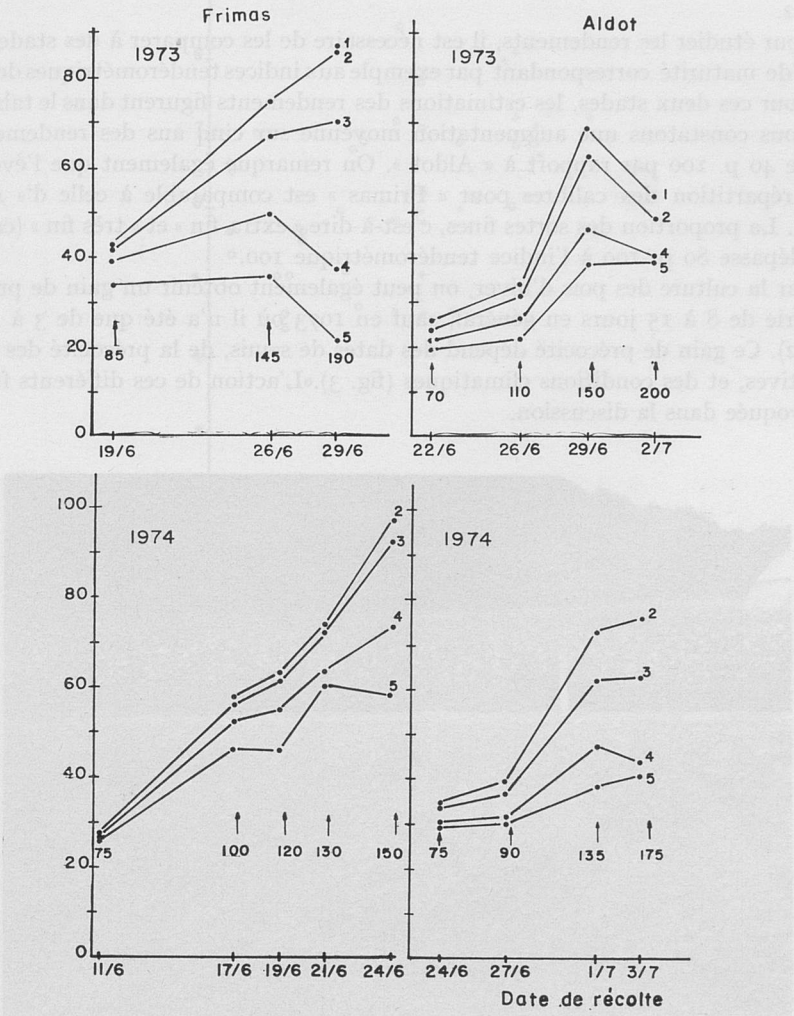


FIG. 2. — *Étude comparative de l'évolution des rendements par calibres de la variété « Frimas » et de la variété précoce de printemps « Aldot » portant sur cinq années d'expérimentation*

Définition des calibres	1	2	3	4	5
Diamètre en mm	> 9,3	9,3-8,75	8,75-8,2	8,2-7,5	< 7,5

Les zones comprises entre deux courbes donnent les rendement des différents calibres.

nécessaire pour écraser un volume de pois défini. Les résultats concernant les deux variétés « Frimas » et « Aldot » pour les cinq dernières années sont rassemblés dans la figure 2.

Pour étudier les rendements, il est nécessaire de les comparer à des stades identiques de maturité correspondant par exemple aux indices tendérométriques de 100 ou 140. Pour ces deux stades, les estimations des rendements figurent dans le tableau 2.

Nous constatons une augmentation moyenne sur cinq ans des rendements de près de 40 p. 100 par rapport à « Aldot ». On remarque également que l'évolution de la répartition des calibres pour « Frimas » est comparable à celle d'« Aldot » (fig. 2). La proportion des sortes fines, c'est-à-dire « extra-fin » et « très fin » (calibre 5 et 4) dépasse 80 p. 100 à l'indice tendérométrique 100.

Par la culture des pois d'hiver, on peut également obtenir un gain de précocité qui varie de 8 à 15 jours en général, sauf en 1973 où il n'a été que de 3 à 4 jours (tabl. 2). Ce gain de précocité dépend des dates de semis, de la précocité des lignées respectives, et des conditions climatiques (fig. 3). L'action de ces différents facteurs sera évoquée dans la discussion.

FIG. 3. — *Gain de précocité obtenu avec les pois d'hiver*
en arrière plan : pois d'hiver en pleine floraison début mai ;
en premier plan : pois de printemps ne couvrant pas encore le sol.

Qualités technologiques des pois d'hiver récoltés en frais

Les pois fourragers donnant des grains frais amers, il importe de contrôler si leur emploi comme géniteur n'a pas entraîné une baisse de la qualité.

Du point de vue gustatif, le produit des pois d'hiver surgelé a été aussi bien apprécié que le pois de printemps parfois même préféré à celui-ci (fig. 4 et 5). Chaque point du graphique représente la moyenne des notes données par un panel d'une

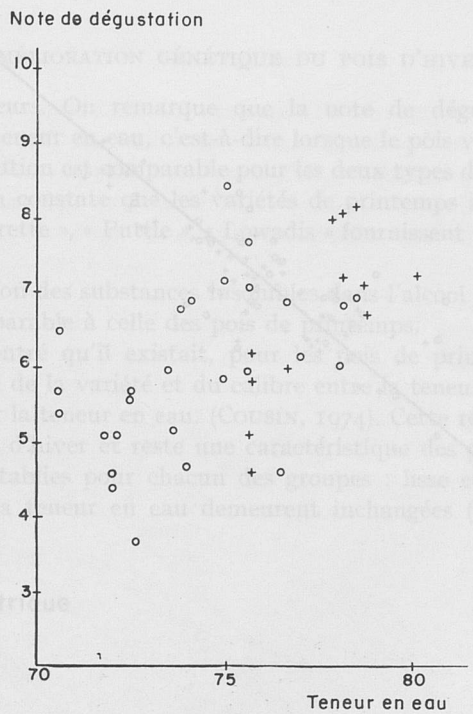


FIG. 4. — *Étude comparative de la valeur gustative des pois d'hiver et des pois de printemps à graines lisses*

○ Pois d'hiver à graines lisses ;
+ Pois de printemps à graines lisses (« Aldot », « Arabal », « Star »).

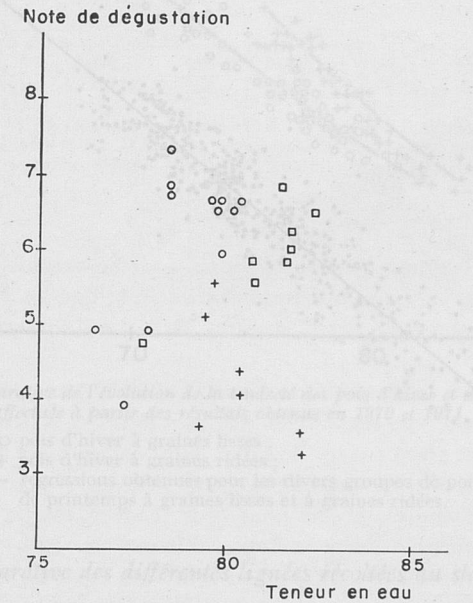


FIG. 5. — *Étude comparative de la valeur gustative des pois d'hiver et des pois de printemps à graines ridées*

○ pois d'hiver à graines ridées ;
+ pois de printemps à très petites graines ridées (« Minarette », « Puttie », « Lowadis ») ;
□ pois de printemps à grosses graines ridées (« Dainty », « Sparkle », « Galaxie », « Early Frosty »).

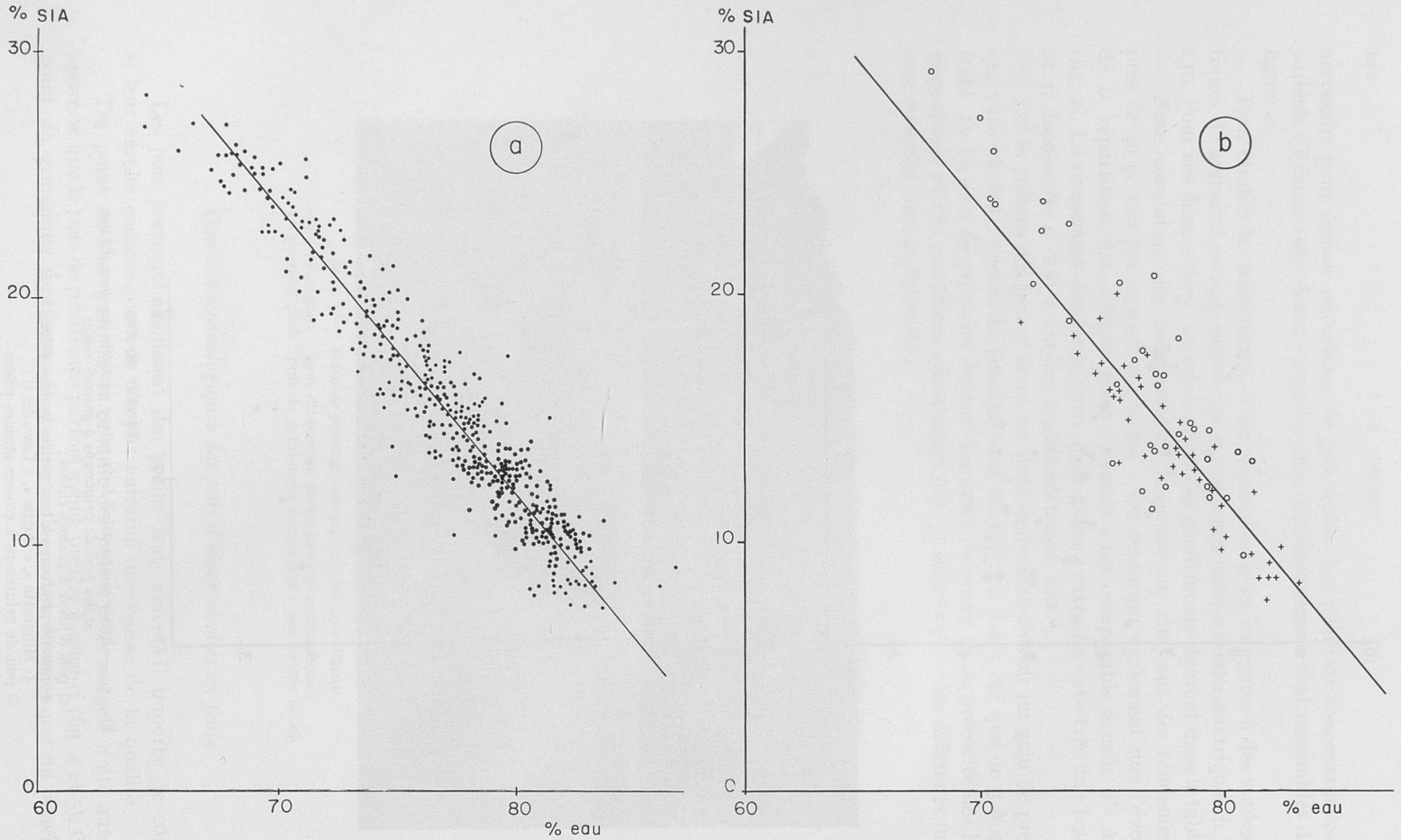


FIG. 6. — *Relation entre les teneurs en eau et en substances insolubles dans l'alcool* (SIA)

a) résultats expérimentaux obtenus avec les pois de *printemps* au cours des années 1970 et 1971 ;
b) résultats expérimentaux obtenus avec les pois *d'hiver* au cours des années 1970 et 1971 comparativement à la droite de régression établie pour les pois de printemps.

—— droite de régression établie pour les pois de printemps ; o pois d'hiver à graines lisses ; + pois d'hiver à graines ridées.

dizaine de dégustateurs. On remarque que la note de dégustation diminue en même temps que la teneur en eau, c'est-à-dire lorsque le pois vieillit et devient plus dur mais cette diminution est comparable pour les deux types de pois : hiver et printemps. Par contre on constate que les variétés de printemps à très petites graines ridées comme « Minarette », « Puttie », « Lowadis » fournissent un produit de valeur gustative inférieure.

De plus l'évolution des substances insolubles dans l'alcool et de la tendreté des pois d'hiver est comparable à celle des pois de printemps.

Nous avions montré qu'il existait, pour les pois de printemps, une relation linéaire indépendante de la variété et du calibre entre la teneur en substances insolubles dans l'alcool et la teneur en eau. (COUSIN, 1974). Cette relation est également vérifiée pour les pois d'hiver et reste une caractéristique des pois frais (fig. 6). De même les relations établies pour chacun des groupes : lisse et ridé, entre l'indice tendérométrique et la teneur en eau demeurent inchangées (fig. 7).

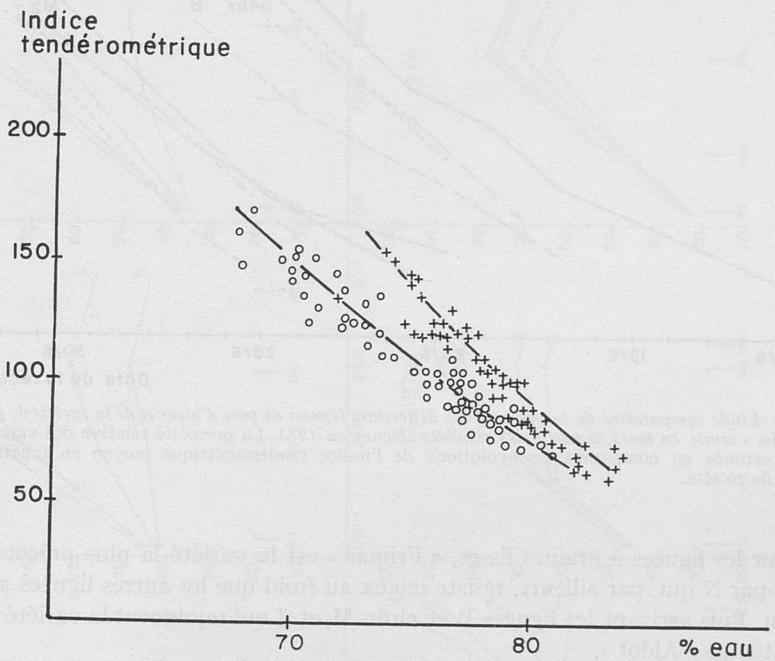


FIG. 7. — *Étude comparative de l'évolution de la tendreté des pois d'hiver et des pois de printemps, effectuée à partir des résultats obtenus en 1970 et 1971*

o pois d'hiver à graines lisses ;
+ pois d'hiver à graines ridées ;
—— régressions obtenues pour les divers groupes de pois de printemps à graines lisses et à graines ridées.

Étude comparative des différentes lignées récoltées au stade frais

Nous disposons actuellement d'une dizaine de lignées issues du premier cycle de sélection. Les unes, à graines lisses, sont destinées à l'appertisation ; les autres, à graines ridées, seraient plus adaptées à la surgélation. A l'intérieur de ces deux

groupes, plusieurs lignées ont été choisies dans le but d'obtenir une gamme de variétés de précocités différentes pour alimenter les usines de façon continue jusqu'aux récoltes des pois de printemps. L'échelonnement de précocité peut être estimé en comparant les évolutions de l'indice tendérométrique moyen, c'est-à-dire effectué sur le pois tout-venant non calibré, des différentes lignées (fig. 8).

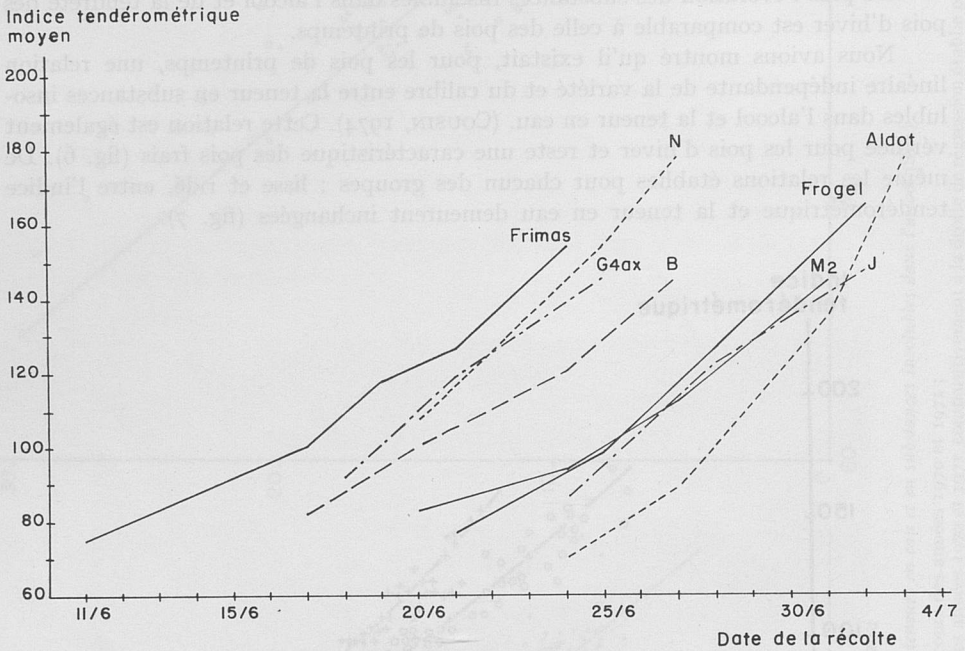


FIG. 8. — *Étude comparative de la précocité des différentes lignées de pois d'hiver et de la variété de printemps « Aldot » semée en mars, à partir des résultats obtenus en 1973.* La précocité relative des variétés peut être estimée en comparant les évolutions de l'indice tendérométrique moyen en fonction de la date de récolte.

Pour les lignées à graines lisses, « Frimas » est la variété la plus précoce suivie de près par N qui, par ailleurs, résiste mieux au froid que les autres lignées au stade floraison. Puis arrivent les lignées B et enfin M_2 et J qui rejoignent la variété précoce de printemps « Aldot ».

Pour les lignées à graines ridées, G_4ax apparaît plus précoce que « Frogel ».

L'évolution des calibres est représentée à la figure 9. « Frimas » et les lignées N, B et J donnent un fort pourcentage de sortes fines comparable à « Aldot ». Par contre, Frogel, G_4ax et M_2 ne fournissent que 50 p. 100 de sortes fines. On remarque, aussi bien pour les pois de printemps que pour ceux d'hiver, que la proportion des petits calibres est un peu plus élevée pour l'ensemble des variétés en 1974 par rapport à 1973, ceci est vraisemblablement dû aux conditions climatiques.

Ces différentes lignées ont une productivité comparable à celle de « Frimas » étudiée précédemment et nous retrouvons l'augmentation des rendements de près de 40 p. 100 par rapport à « Aldot ». Cette amélioration entraîne un accroissement,

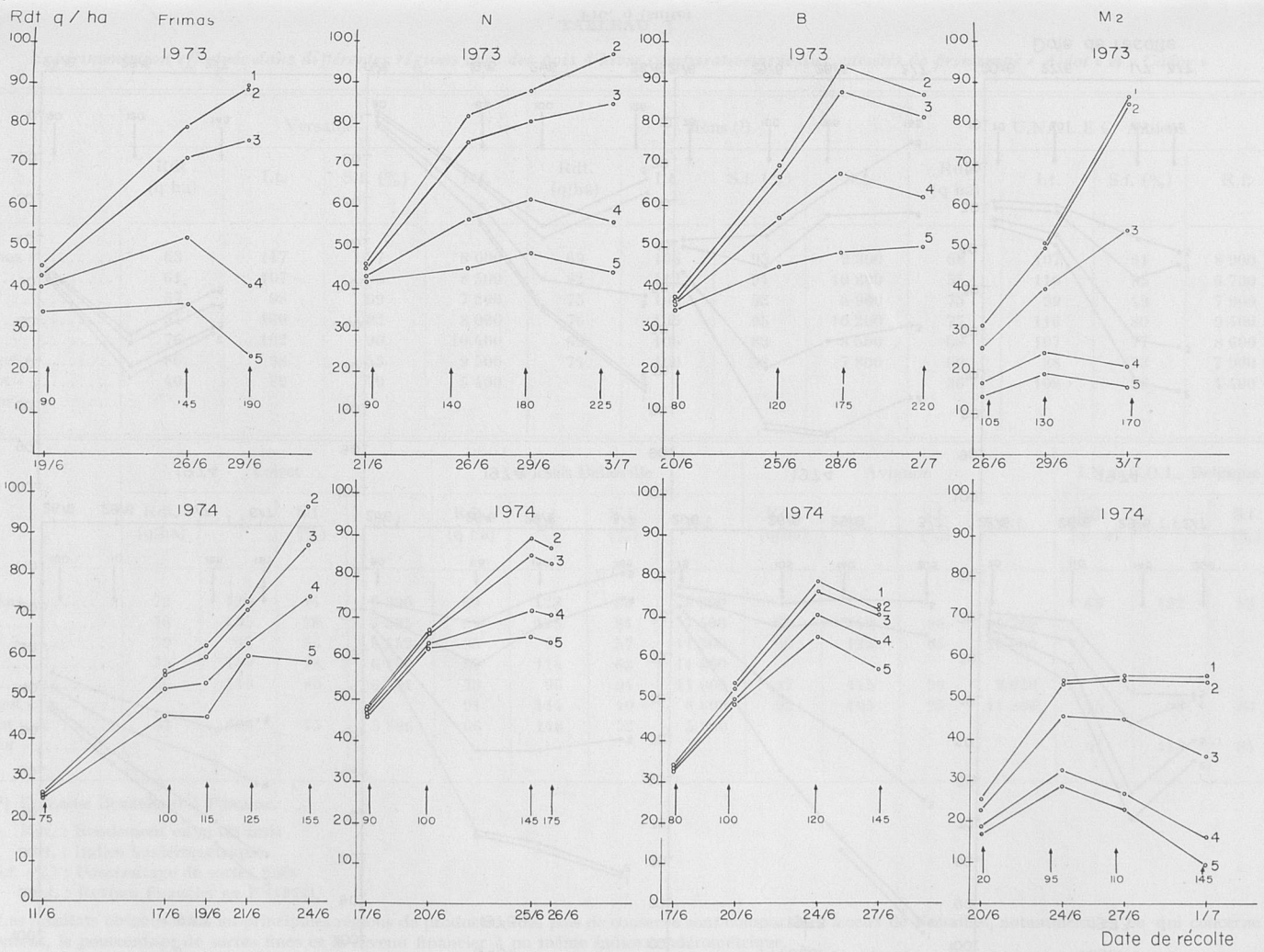


FIG. 9. — *Étude de l'évolution des rendements par calibre pour les différentes lignées de pois d'hiver*

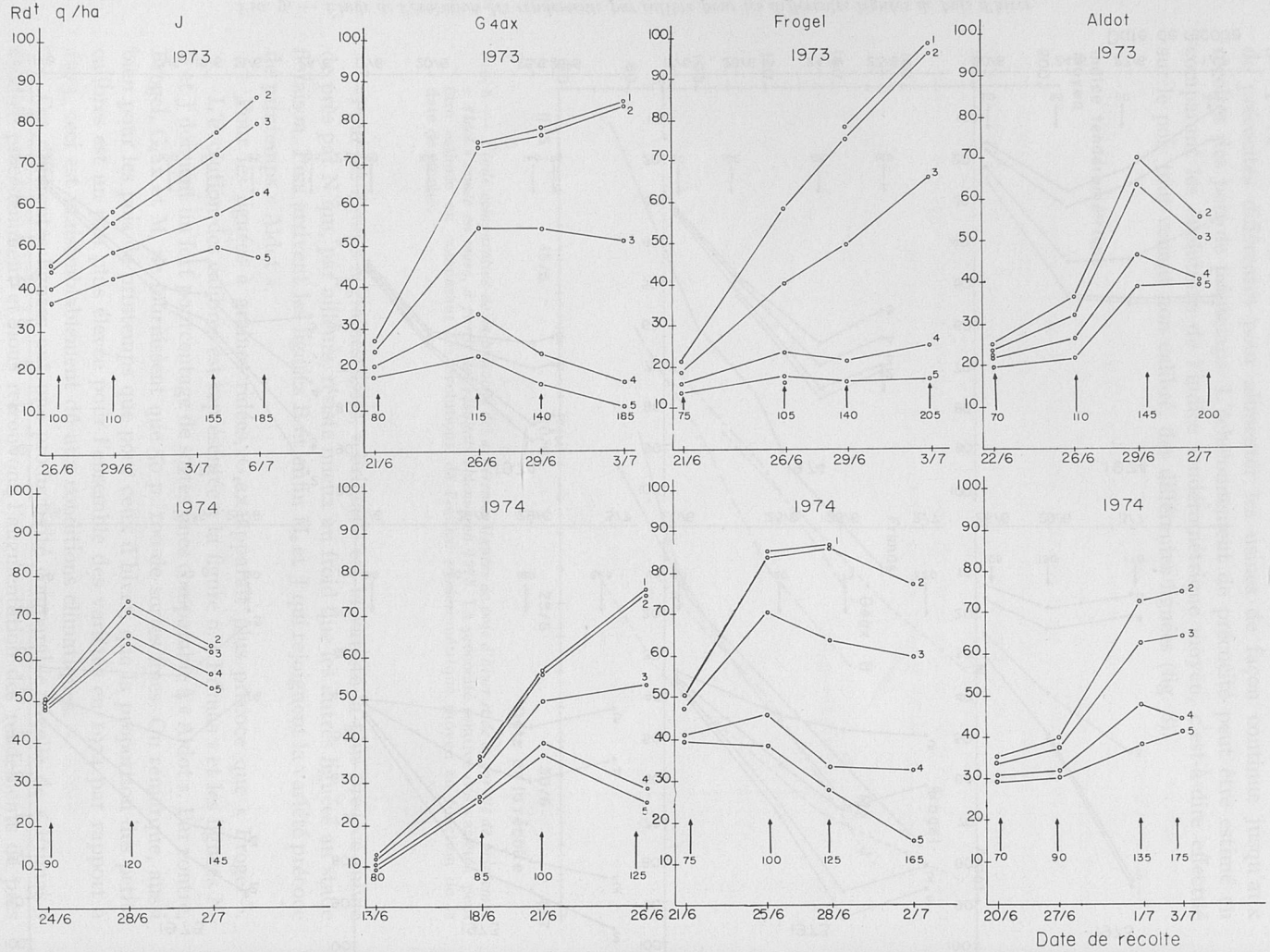

Rdt q /ha
J
1973
100 110 155 185
26/6 29/6 3/7 6/7
G 4ax
1973
80 115 140 185
21/6 26/6 29/6 3/7
Frogel
1973
75 105 140 205
21/6 26/6 29/6 3/7
Aldot
1973
70 110 145 200
22/6 26/6 29/6 2/7
1974
90 120 145
24/6 28/6 2/7
1974
80 85 100 125
13/6 18/6 21/6 26/6
1974
75 100 125 165
21/6 25/6 28/6 2/7
1974
70 90 135 175
20/6 27/6 1/7 3/7
Date de récolte

FIG. 9 (suite)

TABLEAU 3

Expérimentation effectuée dans différentes régions avec des pois d'hiver comparativement aux variétés de printemps « Aldot » et « Cador »

	Versailles				Mons (1)				U.N.I.L.E C. Amiens			
	Rdt (q ha)	I.t.	S.f. (%)	R.f.	Rdt. (q/ha)	I.t.	S.f. (%)	R.f.	Rdt. (q ha)	I.t.	S.f. (%)	R.f.
« Frimas »	63	117	87	8 000	69	106	95	9 300	68	107	81	8 900
N	61	107	95	8 500	82	112	94	10 800	55	110	85	6 700
G_4ax	57	98	69	7 200	75	100	52	6 900	75	99	49	7 900
B	54	100	92	8 000	76	105	95	10 200	77	116	80	9 400
J	76	102	90	10 400	69	106	83	8 500	68	107	77	8 600
« Frogel »	86	98	53	9 500	74	100	58	7 800	60	88	73	7 900
« Aldot »	40	89	79	5 400					36	108	58	4 400
« Cador »												

	Loiret				Plessis Belleville				Avignon				I.N.A.C.O.L. Belgique		
	Rdt. (q/ha)	I.t.	S.f. (%)	R.f.	Rdt. (q ha)	I.t.	S.f. (%)	R.f.	Rdt. (q/ha)	I.t.	S.f. (%)	R.f.	Rdt. (q a)	I.t.	S.f. (%)
« Frimas »	72	120	84	8 300	69	128	88	8 800					63	132	82
N	78	135	78	7 335	60	125	81	7 400	69	140	90	6 700			
G_4ax	79	95	56	8 452	95	96	57	11 500	90	125	95	10 600			
B	75	160	78	6 163	89	114	63	11 600							
J	56	110	80	6 731	73	95	94	11 000	92	145	99	9 020			
« Frogel »					91	114	40	8 600	92	105	95	11 880	45	90	83
« Aldot »	51	120	75	5 896	66	148	52	5 900							
« Cador »													41	113	84

(1) Domaine Brunehaut à Péronne.

Rdt. : Rendement en grain frais
I.t. : Indice tendérométrique
S.f. (%) : Pourcentage de sortes fines
R.f. : Revenu financier en F (1974).

Les résultats obtenus dans les principales régions de production des pois de conserve sont comparables à ceux de Versailles, notamment en ce qui concerne le rendement, le pourcentage de sortes fines et le revenu financier à un même indice tendérométrique.

non négligeable, du revenu financier qui peut passer de 6 à 10 000 francs par hectare. L'expérimentation extérieure, dont seulement quelques essais sont présentés dans le tableau 3, confirme les résultats obtenus à Versailles.

Étude comparative des différentes lignées récoltées en sec

L'allongement du cycle végétatif, obtenu en sélectionnant des pois d'hiver, entraîne un accroissement de la productivité qui se manifeste non seulement au stade frais, comme nous l'avons constaté, mais aussi en sec.

Avec les pois de printemps, les rendements en grains secs varient du simple au double suivant les variétés en un même lieu. De plus les facteurs du milieu accentuent ces différences dans le même rapport. Parmi les variétés qui paraissent fournir les meilleurs rendements, on peut signaler quelques variétés de conserve comme « Starcovert » et « Colmo » ainsi que des variétés de casserie du type « Rondo » ou encore des variétés d'origine hollandaise spécialement sélectionnées pour le sec : « Finale », « Flavanda » et « Allround ».

Les trois dernières années d'expérimentation révèlent que les pois d'hiver fournissent des rendements supérieurs à ceux des pois de printemps (tabl. 4).

Les rendements moyens calculés pour l'année 1974 à partir d'environ 16 essais répartis dans différentes régions donnent une évaluation de la productivité de ce nouveau matériel. On constate qu'elle atteint un maximum de près de 60 q/ha dans les vallées du Rhône et de la Sâone ainsi que dans l'ouest de la Fance. Elle s'exprime moins dans les régions de Château-Thierry et de Mons-en-Chaussée, mais reste néanmoins supérieure à celle des pois de printemps.

Les résultats d'un réseau d'essais réalisé en collaboration avec le S.E.I., des C.E.T.A. et l'I.T.C.F., rassemblés dans le tableau 5 et dans les figures 10 et 11, permettent une interprétation statistique qui contribue à préciser les différences. L'essai comprend sept variétés dans sept lieux, mais « Rondo » et « Midfreezer » ne figurent pas dans deux lieux. Ceci nous conduit à effectuer l'analyse de quatre façons différentes : en considérant trois lieux et sept variétés, cinq lieux et six variétés en supprimant « Midfreezer » ou « Rondo » enfin sept lieux et cinq variétés. La comparaison des résultats de ces analyses montre d'une part que « Midfreezer » a un rendement significativement inférieur aux trois autres variétés de printemps : « Rondo », « Colmo » et « Starcovert » et d'autre part que « Rondo » n'est pas significativement différent de « Colmo ».

Il convient donc de choisir l'analyse qui porte sur sept lieux et cinq variétés puisque la suppression des variétés « Midfreezer » et « Rondo » ne défavorise pas le groupe des variétés de printemps qui peut alors être comparé au groupe des variétés d'hiver.

L'analyse révèle les points suivants (tableau 5b, 5c) :

1° il n'y a pas d'effet « répétition » dans les lieux ;

2° l'effet maximum est fourni par celui des groupes de variétés. Les variétés d'hiver ont un rendement moyen de 44,5 q/ha significativement très différent de la moyenne des variétés de printemps : 29,3 q/ha ;

3° une interaction « lieux » × « groupe de variétés » est nettement significative. En effet, c'est à Gotheron que la différence entre les deux groupes est maximum : les variétés d'hiver ayant un rendement trois fois plus élevé que

TABLEAU 4

Rendement en pois secs obtenus, depuis trois ans dans différentes régions, avec le pois d'hiver comparativement à quelques variétés de printemps (en q/ha)

	B	« Frimas »	« Frogel »	J	N	« Star-covert »	« Colmo »	« Mid-freezer »	« Rondo »
1971-72									
Gotheron	50	49	41	38					
La Minière	49		29						
1972-73									
Gotheron	36		25	25	30	14	22		
Saulce	55	57	48						
La Minière	34	26	27						
Versailles		50	54			39	48	46	
Mons	35	28	39			32			
Château Thierry			24						
Puiseaux	28	26	19			20	29		
Dijon	39	34	27	35	43	21	27		27
Issoudun	40	29	31	37		5	7		
Saint-Laurent	44					21			23
1973-74									
Gotheron	52	46	44		45	16	16	15	27
Saulce	46	45	39			22	25		
La Minière	50	53	35				32		
Versailles	37	43	27	40	40	44	50	37	54
Mons	36	39	31	33	37	28	31	27	30
Château Thierry	35	28	30			20	18	15	15
Puiseaux	51	49	41			27	26	24	
Chartres	50	49	35						
Plessis Belleville	57	46	48	54	50		43		30
Dijon	61	61	37	46	55	40	54		55
Issoudun	39	38	38	41	39	23	35	28	30
Limoges	34	37	27						
Saint Yrieix	43		43	43					
Saint Laurent	43	45	45	47					
Rochefort	60	60	43	53					
Saint-Livrade	41		39	41					
Rendement moyen pour l'année 1974	45,9	45,6	37,6	44,2	44,3	27,5	33,0	24,3	34,4

TABLEAU 5

Étude des rendements en grains secs des pois d'hiver comparativement aux pois de printemps dans sept régions différentes

a) Résultats expérimentaux

Variétés		Versailles 1				Issoudun 2				Château-Thierry 3			
Hiver													
B	11.....	36,0	45,4	34,1	33,2	33,5	38,2	39,4	44,8	34,9	39,3	38,0	27,9
« Frimas »	12.....	42,7	45,6	44,0	37,9	37,3	39,4	37,1	37,3	34,5	26,4	32,4	21,0
« Frogel »	13.....	29,8	21,4	37,1	20,1	38,9	36,3	37,3	40,0	22,2	30,4	32,3	28,5
Printemps													
« Starcovert »	21.....	45,4	51,8	39,4	40,3	19,2	23,3	23,3	17,1	23,1	17,7	20,4	19,1
« Colmo »	22.....	53,4	49,0	48,3	49,1	25,1	28,1	30,8	32,2	24,0	14,0	12,5	21,8
(1) « Rondo »	23.....	60,7	52,4	50,4	54,2	25,5	27,6	27,7	21,3	17,4	19,5	14,7	10,4
(1) Midfreezer	24.....	42,2	37,5	32,3	37,4	19,0	25,6	25,7	25,9	17,0	11,1	18,4	14,2

Variétés		Gotheron 4				Puiseaux 5				Saulce 6				Dijon 7			
Hiver																	
B	11.....	66,6	64,8	59,8	61,7	43,8	51,0	55,8	53,8	49,1	57,1	52,8	54,7	64,8	56,8	57,6	65,1
« Frimas »	12.....	55,2	54,9	59,4	58,7	52,2	42,3	47,4	55,8	48,9	52,2	58,4	57,0	61,7	57,2	59,2	66,1
« Frogel »	13.....	52,2	58,7	48,3	60,6	44,8	39,2	38,8	40,4	36,6	36,8	39,0	35,7	34,2	35,1	42,5	38,0
Printemps																	
« Starcovert »	21.....	18,4	20,0	14,9	12,3	25,3	25,3	22,5	35,6	23,1	22,1	21,3	19,7	40,3	27,2	43,3	44,2
« Colmo »	22.....	16,5	24,1	28,0	17,3	14,3	27,6	30,7	30,3	21,7	25,6	29,0	24,9	52,8	49,2	48,8	54,3
(1) « Rondo »	23.....									24,9	28,2	27,5	24,0	54,5	53,2	57,2	55,0
(1) Midfreezer	24.....	13,4	18,7	14,2	15,3	22,2	22,2	32,2	19,9								

(1) Pour mémoire : ne rentrent pas dans l'analyse statistique.

TABLEAU 5 (*suite*)

b) Rendements moyens en q/ha obtenus par les différentes variétés et groupes de variétés suivant les lieux.

Groupe de variétés	Lieux							Moyennes des groupes	Variétés	Moyennes variétales
	1	2	3	4	5	6	7			
Hiver	35,6	38,3	30,6	58,4	47,1	48,2	53,2	44,5	B « Frimas » « Frogel »	48,6 47,2 37,7
Printemps	47,1	24,9	19,1	18,9	26,5	23,4	45,0	29,3	« Starcovert » « Colmo »	27,0 31,5

c) Analyse de variances de l'essai : sept lieux, cinq variétés

Origine de la variation	Somme des carrés	Degrés de liberté	Carré moyen	F	P.p.d.s. au seuil 0,05
Variation totale	27 688	139	199		
Erreur résiduelle	1 149	63	18		
Groupe de variétés : printemps-hiver	7 788	1	7 788	427	1,44
Variétés dans les groupes	2 263	3	754	41	2,28
Lieux	6 743	6	1 124	61	2,69
Répétition dans les lieux	609	21	29	2	—
Lieux × groupe de variétés	7 141	6	1 190	65	3,81
Lieux × variétés dans les groupes	1 585	18	88	5	6,03
Groupe × répétition dans les lieux	408	21	19	1	—

les variétés de printemps. Par contre, cette année à Versailles, les variétés de printemps se sont montrées supérieures (c'est jusqu'à présent, le seul cas d'inversion observé) (fig. 10) ;

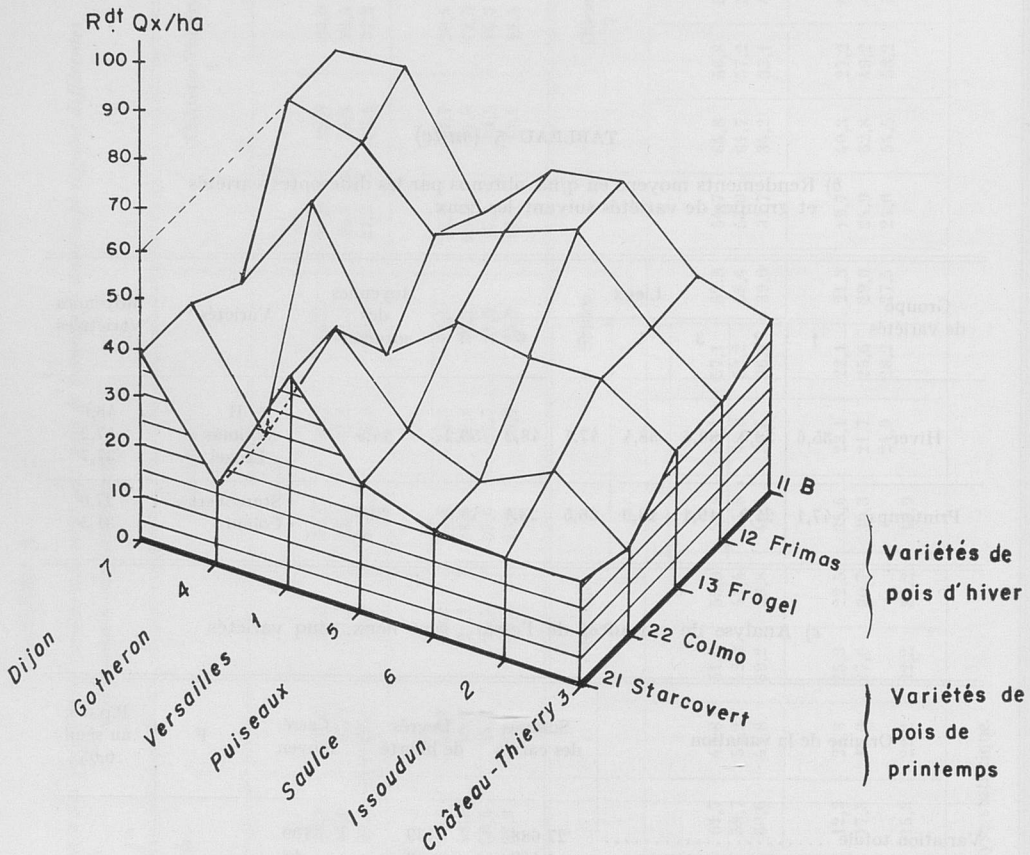


FIG. 10. — *Représentation graphique des résultats relatifs au tableau 5 a*

4° la lignée B a un rendement légèrement supérieur à « Frimas » mais non significativement différent ;

5° la figure 11 montre que, parmi les variétés de pois d'hiver, la lignée B présente la meilleure régularité de rendement et « Frogel » la moins bonne. Par ailleurs, la variété de printemps « Colmo » répond mieux que « Starcovert » en conditions riches.

Richesse en protéines des pois d'hiver

L'augmentation des rendements en pois secs, obtenue par la culture des pois d'hiver, laisse prévoir que cette espèce fournira certainement une nouvelle source de protéines. Toutefois, il convient de vérifier que ce gain de rendement n'entraîne pas une diminution de la teneur en protéines.

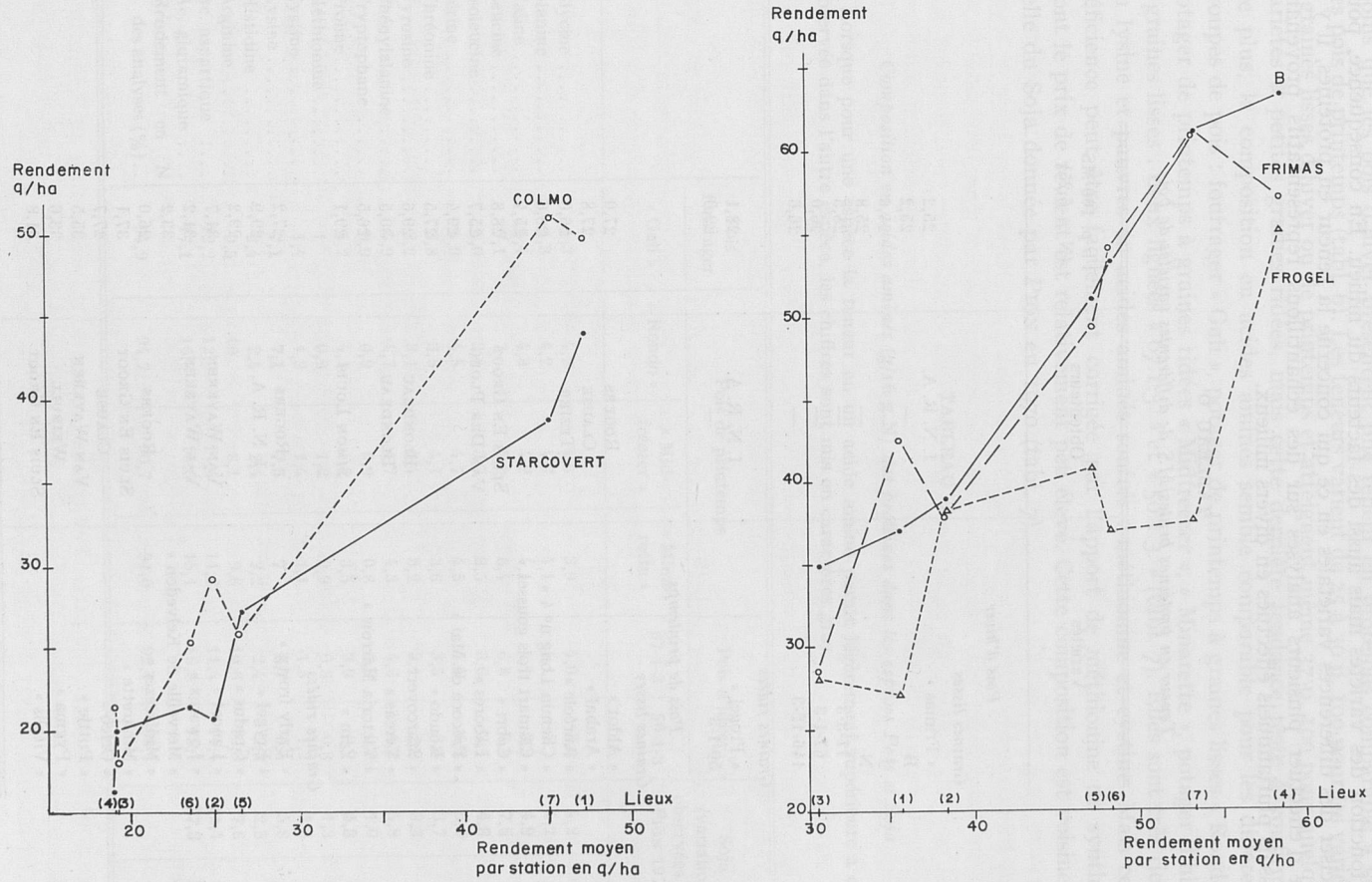


FIG. 11. — *Rendement des variétés en fonction du rendement moyen en chaque lieu pour les deux groupes variétaux : printemps* (à gauche) *et hiver* (à droite)

Les études effectuées en collaboration avec J. BAUDET du Département de Physiologie végétale montrent que la teneur en protéines des pois varie non seulement en fonction des variétés mais aussi des facteurs du milieu. En conséquence, pour préciser des différences variétales en ce qui concerne la teneur en protéines, il y a lieu d'effectuer plusieurs analyses sur des échantillons représentatifs provenant d'essais pluriannuels effectués en divers milieux.

TABLEAU 6

Teneur en protéines brutes/MS de différentes variétés de pois

Variétés	Obtenteurs	Pb p. 100 MS (N × 6,25)
Pois d'hiver		
Graines lisses		
« Frimas »	I. N. R. A.	25,2
B	—	25,2
J	—	24,6
N	—	25,8
11-3-3	—	25,5
67-1-3	—	26,0
146-12-3	—	26,6
Graines ridées		
« Frogel »	I. N. R. A.	28,1
50-1-3	—	29,0
Pois de printemps		
Graines lisses		
« Aldot »	ROGERS	27,0
« Arabal »	CLAUSE	27,8
« Auréole »	TEZIER	26,0
« Chemin Long n° 4 »		28,6
« Clamart trois gousses »		25,4
« Cobri »	SLUIS EN GROOT	28,8
« Labores »	VAN DER PLOEG	25,7
« Précoce de Mai »		29,4
« Rondo »		27,5
« Starcovert »	BLONDEAU	29,6
« Vercas »	BLONDEAU	30,5
« Victoria Marrow »		26,5
« Zem »	SIMON LOUIS	29,1
Graines ridées		
« Early frosty »	ROGERS	27,2
« Erygel »	I. N. R. A.	29,9
« Gradus »		29,2
« Lancet »	VAN WAVEREN	31,7
« Lowarex »	VAN WAVEREN	31,2
« Merveille de Kelvedon »		33,2
« Midfreezer »	ROGERS	26,0
« Minarette »	SLUIS EN GROOT	37,1
« Orfeo »	CLAUSE	27,7
« Puttie »	VAN WAVEREN	35,5
« Pygma »	WEIBULL	33,6
« Vitalis »	SLUIS EN GROOT	31,8

Les premiers résultats d'analyses fournis par J. BAUDET, encore en nombre trop restreint pour permettre de préciser les différences variétales, montrent néanmoins que les pois d'hiver présentent une teneur en protéines comparable à celle des pois de printemps (tabl. 6). Les teneurs varient de 25 à 30 p. 100 pour les variétés à graines lisses d'hiver ou de printemps et atteignent même 37 p. 100 pour quelques variétés à petites graines ridées, mais cette dernière tendance reste à confirmer. De plus, la composition en acides aminés semble comparable pour les différents groupes de pois : fourrager « Gali », potager de printemps à graines lisses « Rondo », potager de printemps à graines ridées « Midfreezer », « Minarette », potager d'hiver à graines lisses : deux lignées « 67.1.3. » et « 50.1.3. » (tabl. 7). Elles sont très riches en lysine et pauvres en acides aminés soufrés : méthionine et cystine. Mais cette déficience peut être facilement corrigée par l'apport de méthionine de synthèse dont le prix de revient est relativement peu élevé. Cette composition est voisine de celle du Soja donnée par PION en 1970 (tabl. 7).

TABLEAU 7

Composition en acides aminés (g/16 g N) *des protéines dans les espèces Pois et Soja*

Lorsque pour une espèce la teneur en un acide aminé paraît légèrement supérieure à celle observée dans l'autre espèce, les chiffres sont mis en caractères gras.

	Pois fourrager	Pois de printemps			Pois d'hiver		Soja (variations observées par PION 1970)	
	« Gali »	« Rondo »	« Mid-freezer »	« Mina-rette »	67-1-3	50-1-3		
Glycine	4,3	4,2	4,5	3,9	4,0	3,9	4,2	4,6
Alanine	4,3	4,2	4,7	4,1	4,1	4	4,2	4,7
Valine	4,4	4,3	4,2	4,1	4,1	3,9	**4,9**	**5,5**
Leucine	7,1	7	7,0	6,4	6,8	6,4	**7,5**	**8,3**
Isoleucine	4,0	3,8	3,7	3,5	3,6	3,4	**4,8**	**5,5**
Sérine	4,9	4,5	4,7	4,5	4,5	4,2	5,0	5,6
Thréonine	3,8	3,8	4,1	3,6	3,5	3,5	3,7	4,2
Tyrosine	3,2	3,1	3,4	3,2	3,1	2,9	3,3	4,0
Phénylalanine	4,9	4,7	4,7	4,3	4,6	4,2	4,8	5,4
Tryptophane	0,9	0,9	0,9	0,8	0,9	0,9	1,0	1,4
Proline	4,2	4,1	4,1	3,5	3,9	3,7	**5,3**	**6,2**
Méthionine	1	0,9	1,2	0,9	0,8	0,8	1,3	1,6
Cystine	1,4	1,3	1,4	1,1	1,5	1,2	1,5	1,8
Lysine	**7,1**	**7,1**	**7,5**	**7**	**6,7**	6,5	5,8	6,6
Histidine	2,4	2,4	2,4	2,2	2,4	2,3	2,5	2,9
Arginine	9,5	10	8,1	9,6	10,6	12,3	7,6	8,3
Ac. aspartique	12,2	12,9	11,4	11,8	11,4	11,4	11,4	12,1
Ac. glutamique	17,1	16,8	16,5	15,1	16,8	15,7	**17,3**	**18,6**
Rendement en N des analyses (%)	94,9	94,7	90,7	91,0	92,1	93,1		

DISCUSSION ET CONCLUSION

La méthode de sélection employée, qui a permis l'obtention de variétés de pois potagers résistantes au froid, fait appel à des pressions de sélection variables d'une année sur l'autre. En effet, la sélection se fait en pépinière et dépend des conditions climatiques. Nous ne connaissons donc pas le seuil maximum de résistance au froid. Nous savons que certaines lignées ont résisté à —15°C sans neige, mais nous ignorons ce qui se passerait si la température descendait à —18°C. Nous devons attendre que ces conditions se réalisent. Pour ce cas particulier, la seule information que nous ayons recueillie est fournie par un expérimentateur qui, en Suède, a observé que « Frimas » n'a pas subi de dommage à —18°C sans neige pendant une journée seulement fin novembre 1973. Il serait donc intéressant d'améliorer la méthode de sélection en recherchant, soit des critères de sélection en relation avec la résistance au froid, soit en mettant au point des tests artificiels en enceintes conditionnées. Les premières expériences effectuées dans le sens de cette dernière solution montrent que les plantes sont beaucoup plus sensibles que dans la nature, et que les conditions d'endurcissement sont déterminantes et devront être définies de façon très précise.

Parmi ces nouvelles lignées de pois d'hiver, deux d'entre elles, « Frimas » et « Frogel », sont maintenant commercialisées et pourront être implantées sur près de 5 000 ha en automne 1975. Leur culture nécessite quelques modifications des techniques culturales.

Il convient d'étudier pour chaque région la date de semis afin d'obtenir au cours de l'hiver une plantule peu développée en forme de rosette avec plusieurs ramifications. La période se situe en général pendant la deuxième quinzaine d'octobre, plus tôt dans les régions froides, courant novembre dans la vallée du Rhône et le bassin d'Aquitaine, fin novembre en région méditerranéenne.

Contrairement au Pois de printemps, le peuplement n'a pas d'action significative sur le rendement. Les essais implantés à Versailles et Mons au cours des années 1972 et 1973 montrent que les évolutions des rendements, de la répartition des calibres et de leur indice tendérométrique restent semblables pour des peuplements qui varient de 40 à 100 pieds au m² (fig. 12). Pour les pois secs, nous pouvons effectuer les mêmes observations. Il n'est donc pas nécessaire de chercher à obtenir un peuplement supérieur à 100 plantes au mètre carré. Par ailleurs, si, dans des conditions de milieu très défavorables, le peuplement diminue au cours de l'hiver tout en restant supérieur à 40 pieds au mètre carré, l'agriculteur et l'industriel peuvent espérer obtenir un rendement normal.

Cette culture qui occupe le sol pendant une période relativement longue doit être traitée avec les désherbants sélectifs des pois. Si l'on craint une repousse de graminées sauvages, il y a lieu d'effectuer un traitement avec de l'avadex BW (triallate) au moment de la préparation du terrain.

En ce qui concerne l'état sanitaire, les maladies inféodées aux cultures de printemps sont beaucoup plus rares. Par contre, les fontes de semis dues au Sclérotinia paraissent plus fréquentes. Un traitement au benlate (bénomyl) ou peltar (manèbe + méthylthiophanate) devrait arrêter l'infection.

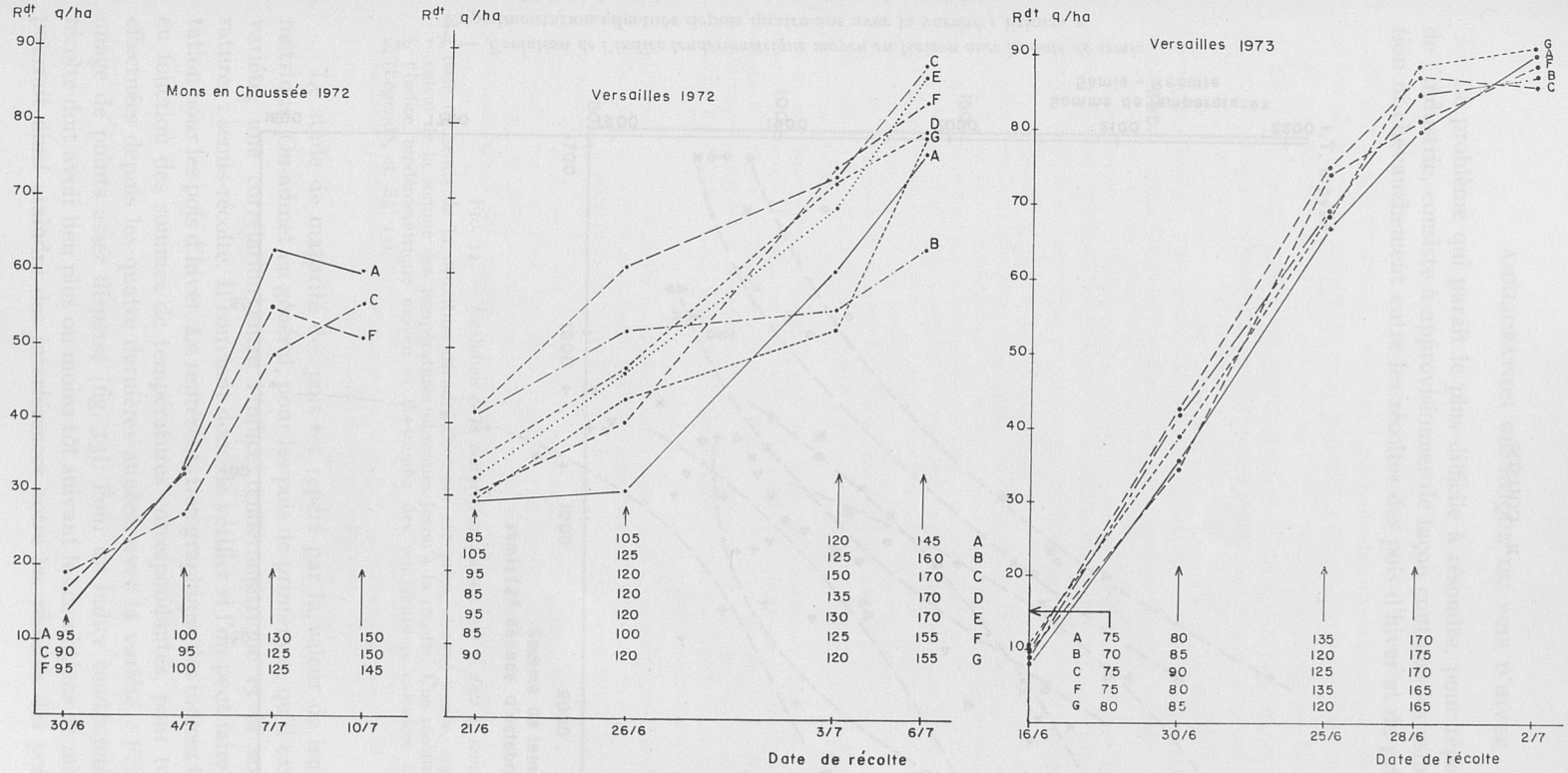


FIG. 12. — *Influence du peuplement sur le rendement et l'évolution de la maturité*

L'étude porte sur trois essais implantés avec la lignée B à Mons-en-Chaussée et Versailles en 1972, Versailles en 1973. Les comparaisons peuvent porter sur sept peuplements théoriques différents :

interligne de 20 cm	A	100	plantes au m²		
—	30	B	80	—	—
—	40	C	50	—	—
—	50	D	40	—	—
—	60	E	33	—	—
—	20	F	50	—	—
—	30	G	40	—	—

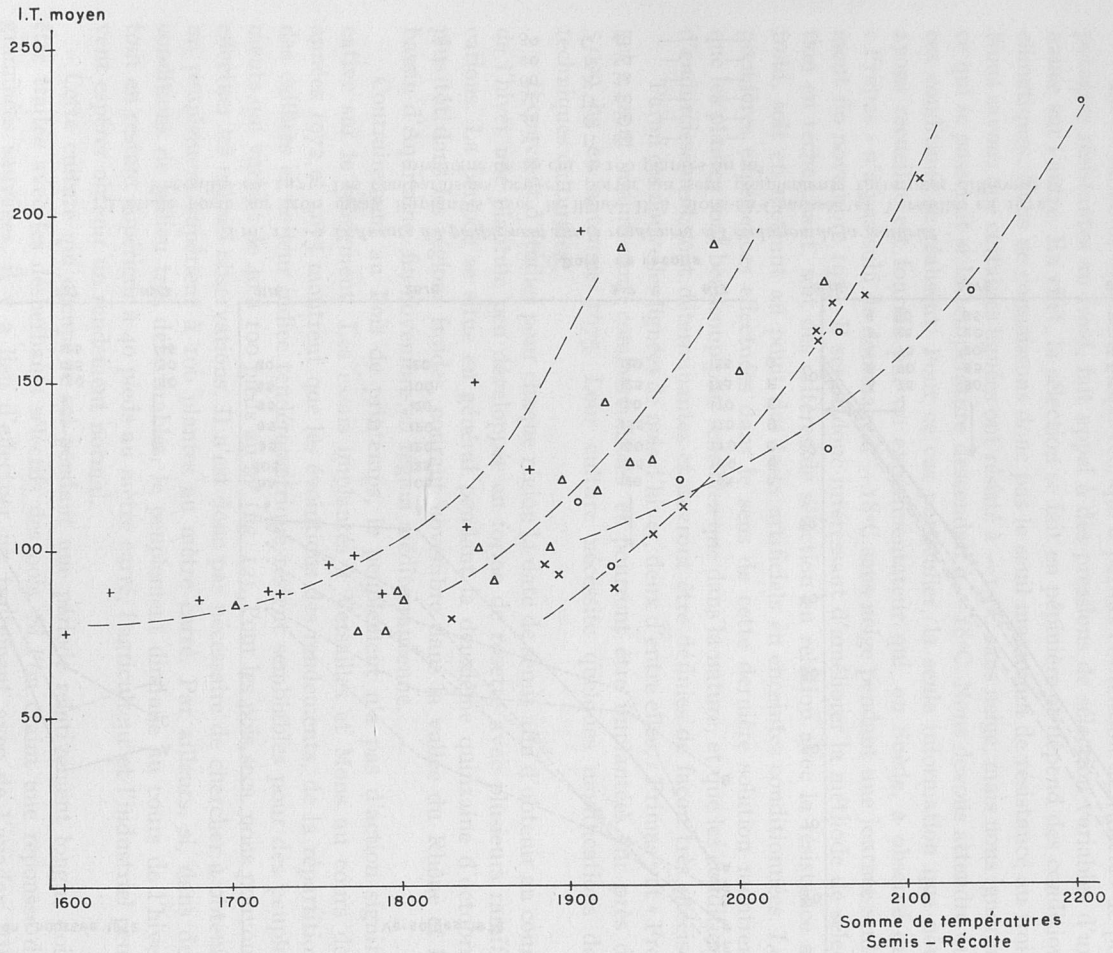


FIG. 13. — *Évolution de l'indice tendérométrique moyen en liaison avec la date de semis*
Expérimentation effectuée depuis quatre ans avec la variété « Frimas »

Période de semis des parcelles récoltées { ○ 20-30 sept. × 1-10 oct. △ 10-20 oct. + 20 oct.-10 nov.

Le problème qui paraît le plus difficile à résoudre, pour répondre aux besoins de l'industrie, consiste à approvisionner de façon continue les usines, sans interruption ni chevauchement entre les récoltes des pois d'hiver et de printemps.

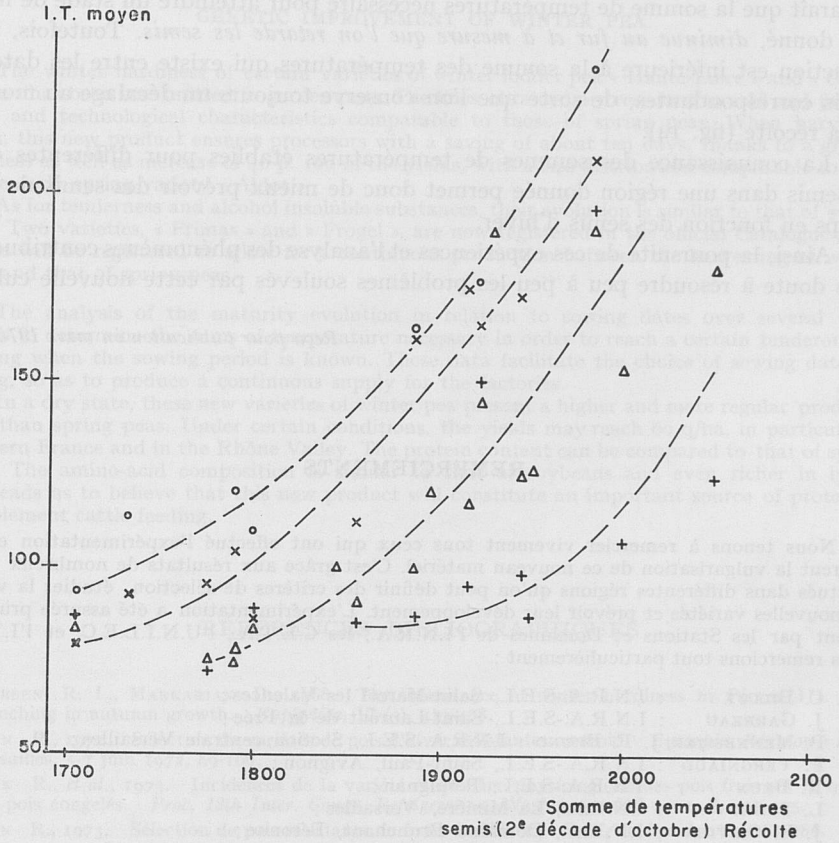


FIG. 14. — *Évolution de la maturité en liaison avec la date de semis*

La date de semis de la deuxième décade d'octobre est prise, chaque année, comme origine pour le calcul de la somme des températures obtenues jusqu'à la récolte. Une récolte est caractérisée par l'indice tendérométrique moyen et la somme des températures calculées à partir de l'origine. (Légende, cf. fig. 13).

Le stade de maturité des pois est repéré par la valeur de leur indice tendérométrique. On admet en général, pour les pois de printemps, qu'il existe, pour chaque variété, une corrélation entre l'indice tendérométrique et la somme de températures : semis-récolte. Il convient donc de vérifier si l'on peut faire la même constatation pour les pois d'hiver. La représentation graphique des indices tendérométriques en fonction des sommes de températures correspondantes, pour toutes les récoltes effectuées depuis les quatre dernières années, avec la variété « Frimas », donne un nuage de points assez dispersé (fig. 13). Pour un indice tendérométrique donné, la récolte doit avoir lieu plus ou moins tôt suivant les conditions de milieu. L'industriel pourrait ainsi craindre des interférences entre les récoltes des pois d'hiver et des

pois de printemps. Mais, en analysant les phénomènes de façon plus approfondie, par exemple en repérant l'époque des semis, on constate que, pour chaque période de semis portant chacune sur dix jours, il devient possible d'établir une relation entre l'indice tendérométrique et la somme de températures : semis-récolte. De plus, il apparaît que la somme de températures nécessaire pour atteindre un stade de maturité donné, *diminue au fur et à mesure que l'on retarde les semis*. Toutefois, cette réduction est inférieure à la somme des températures qui existe entre les dates de semis correspondantes, de sorte que l'on conserve toujours un décalage au moment de la récolte (fig. 14).

La connaissance des sommes de températures établies pour différentes dates de semis dans une région donnée permet donc de mieux prévoir des semis de printemps en fonction des semis d'hiver.

Ainsi, la poursuite de ces expériences et l'analyse des phénomènes contribueront sans doute à résoudre peu à peu les problèmes soulevés par cette nouvelle culture.

Reçu pour publication en mars 1975.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier vivement tous ceux qui ont effectué l'expérimentation et qui assurent la vulgarisation de ce nouveau matériel. C'est grâce aux résultats de nombreux essais effectués dans différentes régions qu'on peut définir des critères de sélection, étudier la valeur des nouvelles variétés et prévoir leur développement. L'expérimentation a été assurée principalement par les Stations et Domaines de l'I.N.R.A., les C.E.T.A., l'U.N.I.L.E.C. et l'I.T.C.F. Nous remercions tout particulièrement :

MM. C. Billot : I.N.R.A.-S.E.I., Saint-Marcel les Valences ;
J. Garreau : I.N.R.A.-S.E.I., Saint-Laurent de la Prée ;
P. Mennessier, J. F. Bruno : I.N.R.A.-S.E.I., Section centrale Versailles ;
P. Vergniaud : I.N.R.A.-S.E.I., Saint-Paul, Avignon ;
R. Brun : I.N.R.A.-S.E.I., Perpignan ;
L. Felix : I.N.R.A., La Minière, Versailles ;
J. P. Olivier : I.N.R.A., Domaine Brunehaut, Péronne ;
J. Picard : Directeur de la Station d'Amélioration des Plantes de Dijon et ses collaborateurs MM. G. Durey et Nicolas ;
J. de Boisson : I.T.C.F., Valence (Saulce) ;
François : C.E.T.A. du Sud de l'Aisne, Château-Thierry ;
Salomon : C.E.T.A. du Valois, Plessis Belleville ;
E.Gablin, D. Nicolas, J. Chappuis : C.E.T.A., Champagne Berrichonne, Issoudun ;
H. Bonnet : C.E.T.A. de Charente-Maritime, Rochefort ;
Sardin : E.D.E., Limoges ;
J. L. Rigault : Coopérative agricole, Puiseaux ;
R. Aubert, J. C. Serre : Chambre d'Agriculture d'Eure-et-Loir, Chartres ;
J. Lemaire : Chambre d'Agriculture du Loiret, Orléans ;
M. Nadal, P. de Laage de Meux : U.N.I.L.E.C., Dury les Amiens ;
J. Anthonissen : I.N.A.C.O.L., Wezembeek Oppem (Belgique) ;
J. Drigear Desgarnier : Lycée agricole de Sainte-Livrade ;
Guillaumin : Collège agricole de Saint-Yrieix ;

G. Lefevre : I.N.R.A., Agronomie, Amiens ;
P. Varoquaux : I.N.R.A., Technologie, Dijon, pour les analyses chimiques effectuées.

SUMMARY

GENETIC IMPROVEMENT OF WINTER PEA

The winter hardiness of certain varieties of winter fodder pea « Haute-Loire » and « Champagne » has been transmitted to garden peas. The lines obtained are resistant to cold and present taste and technological characteristics comparable to those of spring peas. When harvested green, this new product ensures processors with a saving of about ten days, thanks to a greater earliness as well as increase of 40 p. 100 in the yields, with a size distribution comparable to that of the early spring variety « Aldot ».

As for tenderness and alcohol insoluble substances, their evolution is similar to that of spring peas. Two varieties, « Frimas » and « Frogel », are now registered in the official Catalogue ; two others will be registered to allow for a continuous production between the harvesting of winter peas and that of spring peas.

The analysis of the maturity evolution in relation to sowing dates over several years allows to determine the sums of temperature necessary in order to reach a certain tenderometer reading when the sowing period is known. These data facilitate the choice of sowing dates in spring, so as to produce a continuous supply for the factories.

In a dry state, these new varieties of winter pea present a higher and more regular productivity than spring peas. Under certain conditions, the yields may reach 60 q/ha, in particular in Western France and in the Rhône Valley. The protein content can be compared to that of spring peas. The amino-acid composition is similar to that of soybeans and even richer in lysin ; this leads us to believe that this new product will constitute an important source of protein to complement cattle feeding.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANDERSEN R. L., MARKARIAN D., 1968. The inheritance of winter hardiness in *Pisum*. III. Stem branching in autumn growth. *Euphytica*, **17** (3), 473-478.

COUSIN R., 1972. Sélection de variétés de pois d'hiver résistantes au froid. *Eucarpia, Réunion « Pois »* Versailles, 5-7 juin 1972, 89-100.

COUSIN R., *et al.*, 1973. Incidences de la variété et de l'âge physiologique des pois frais sur la qualité des pois congelés. *Proc. 12th Inter. Congr. Refrigeration.* Washington DC 1971, **3**, 317-325.

COUSIN R., 1973. Sélection de pois résistants au froid de l'hiver. *Rev. gén. Froid*, n° 3, 283-286.

COUSIN R., 1974. Le Pois. Étude génétique des caractères, classification, caractéristiques variétales portant sur les variétés inscrites au Catalogue officiel français. I. N. R. A. *Ann. Amélior. Plantes* n° hors séries, Paris, t. 1, 111 p., t. 2, fiches descriptives.

DOWKER B. D., 1969. Field methods of assessing winter hardiness in peas. *Euphytica*, **18** (3), 398-402.

DRESSLER O., 1972. The influence of selection by natural factors on the breeding result in peas, *Eucarpia, Réunion « Pois »*, Versailles, 5-7 juin 1972, 75-78.

MARKARIAN D. *et al.*, 1968. The inheritance of winter hardiness in *Pisum*. II. Description and release of advance generation breeding lines. *Euphytica*, **17** (1), 110-113.

MARKARIAN D., ANDERSEN R. L., 1966. The inheritance of winter hardiness in *Pisum*, I. *Euphytica*, **15** (1), 102-110.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (2), 265-277.

APPRÉCIATION DE LA FORCE DES BLÉS TENDRES EN SÉLECTION PRÉCOCE. ÉTUDE COMPARÉE DE DIFFÉRENTS TESTS MINIATURISÉS

A. BOURDET, Renée BERRIER et J. C. AUTRAN
avec la collaboration technique de Denise CLAUX

Laboratoire de Recherches sur la Qualité des Blés, I. N. R. A., E. N. S. M. I. C.,
16, rue Nicolas-Fortin,
75013 Paris

RÉSUMÉ

Différents tests rhéologiques, physiques, chimiques et un essai de cuisson mettant en œuvre de faibles quantités de grain (100 g env.) ont été appliqués à des séries de lignées et de variétés de blé tendre françaises et étrangères, récoltées entre 1970 et 1973, et largement diversifiées au plan technologique.

Les volumes des pains obtenus en micro-cuisson présentent une corrélation élevée et significative avec les W alvéographiques servant de critères en sélection avancée et constituent au même titre une expression de la force des blés.

Le calcul des corrélations entre le volume des pains pris comme référence et les divers tests indirects met d'autre part en évidence que certaines données du mixographe, les indices de sédimentation et d'absorption acide ainsi que le test au microfarinographe sur grains broyés fournissent une expression significative de cette force. Il n'en est pas de même pour la teneur en protéines totales, l'indice Pelshenke et la capacité d'hydratation des farines.

Le rapport gluténine/gliadine et le taux de gluténine soluble après réduction apparaissent également associés au facteur force. Toutefois, la mise en œuvre de ces tests réclame du temps et permet difficilement leur exploitation au plan pratique.

Tout en montrant l'utilité de l'essai de cuisson comme critère de référence, on confirme l'intérêt pratique du test Zeleny, de réalisation plus simple. On considère également que la méthode du mixographe, également simple et rapide mais plus spécifiquement technologique, pourrait constituer un micro-test intéressant dans l'appréciation de la force des blés en sélection précoce.

INTRODUCTION

En sélection avancée et à l'inscription au Catalogue, la qualité technologique des blés tendres, longtemps considérée sous le seul aspect de la panification, est actuellement définie à partir de 3 critères : l'alvéogramme, l'indice Zeleny et l'essai de cuisson expérimentale, type boulanger ou biscuitier.

— Le *W alvéographique* et ses composantes, fournissent une expression numérique de certaines propriétés plastiques de pâtes récemment pétries, non fermentées et hydratées à un taux constant, quelle que soit la nature des farines. A l'origine conçue pour les besoins de la meunerie (CHOPIN, 1921), cette méthode fut ultérieurement mise à profit aux derniers stades de la sélection des blés pour apprécier ce que l'on dénomma d'abord leur « valeur boulangère » (ALEXINSKI et DUBOIS, 1951), puis moins improprement leur « force boulangère » (NURET, 1954).

— De toute évidence, l'*essai de cuisson*, avec les appréciations qu'il permet de porter sur la pâte et le produit fini, constitue le test d'appréciation le plus objectif. Si l'on s'en réfère à la publication d'ARPIN et PÉCAUD (1923) relative aux variétés de la récolte 1921, la France fut un des premiers pays à utiliser la panification expérimentale comme critère de la valeur boulangère des blés sélectionnés. Les travaux d'ARPIN (1926), de PÉCAUD (1927), de SCHRIBAUX (1927-1930-1931) comme ceux qui leur ont fait suite jusqu'en 1939 (BORMANS, 1931, LOEB, 1933 ; CRÉPIN, 1934, LEMOIGNE et DUPIC, 1936), sont à l'origine des premières améliorations technologiques apportées aux variétés françaises.

A la fin de la 2e guerre mondiale, l'essai de panification, en tant que critère de sélection technologique, allait être délaissé au profit de la méthode Chopin. Il faudra attendre 1965 pour que, à la demande des professionnels de la meunerie et de la boulangerie, se constitue au sein du C.N.E.R.N.A. (1) une commission spécialisée chargée de réhabiliter, en le codifiant, l'essai de panification. Ainsi, compte tenu de l'évolution des technologies, 2 protocoles expérimentaux, l'un dit de « pétrissage normal », l'autre de « pétrissage intensifié », étaient successivement mis au point (C.N.E.R.N.A., 1969). C'est ce dernier qui a été récemment adopté par le C.T.P.S. (2).

Pour préciser la valeur d'utilisation des blés en dehors de la boulangerie, il est également fait appel à l'essai biscuitier (DE LA GUÉRIVIÈRE *et al.*, 1971) élaboré par le Centre technique de la profession, mais pratiqué par la meunerie selon un protocole différent. Il existe également un essai biscottier (BATTAIL et GÉRARD, 1966) que le C.T.P.S. ne fait pas entrer en ligne de compte.

— L'*indice de sédimentation* proposé par ZELENY en 1947 est une expression indirecte du taux de protéines des blés et de la qualité de leur gluten. La méthode fut d'abord appliquée à des lots commerciaux et à des variétés puis, dans sa seconde version (PINKNEY *et al.*, 1957), à des lignées aux stades précoces de la sélection (ZELENY, 1960). De nombreux pays devaient de même la mettre à profit dans leurs programmes de sélection. Son introduction en Europe se situe vers les années 1950, et l'Allemagne fut un des premiers à l'utiliser tant en sélection (SCHAEFFER, 1956) qu'en production (SEIBEL, 1960). En France, c'est seulement à partir de la campagne 1969-1970 que l'O.N.I.C. (3) devait mettre en application un système de classement faisant intervenir l'indice Zeleny. A son tour, le C.T.P.S. allait introduire ce critère dans les normes de qualité requises lors de la présentation des variétés nouvelles à l'inscription.

Pressentant l'intérêt que pouvait présenter cette méthode en sélection qualitative précoce des blés français, une étude intéressant 364 échantillons représentant

(1) C.N.E.R.N.A. : Centre national de Coordination des Études sur la Nutrition et l'Alimentation.
(2) C.T.P.S. : Comité technique permanent de la Sélection des Plantes cultivées.
(3) O.N.I.C. : Office national interprofessionnel des Céréales.

38 variétés était entreprise vers 1960. Elle devait mettre en évidence l'existence d'une corrélation élevée entre l'indice Zeleny et le W alvéographique (BOURDET, 1963).

Entre 1958 et 1970, divers travaux furent également entrepris, d'abord à l'initiative de l'E.U.C.A.R.P.I.A. (1) et de l'A.P.A.P. (2), puis au titre d'une action concertée D.G.R.S.T. avec les différents secteurs professionnels. Ils visaient surtout à préciser, du fait de l'évolution des technologies du pétrissage, la validité des normes de qualité en usage, aussi bien en France que dans les différents pays européens. Les résultats détaillés de ces travaux furent publiés respectivement en 1970 (BOURDET et LECLERCQ), en 1971 (BOURDET, BERRIER et LECLERCQ) et en 1972 (BOURDET, BERRIER et AUTRAN).

Du point de vue français, il en ressortait que dans les conditions classiques de pétrissage, seuls l'indice G de l'alvéographe (récoltes 1962 et 1964) et l'indice Zeleny (récolte 1964) étaient significativement associés au volume du pain. Ces relations ne se vérifiaient plus en pétrissage intensifié. Quelle que soit d'ailleurs la technique de pétrissage mise en œuvre, il n'apparaissait aucune corrélation significative entre le W alvéographique et les résultats de l'essai de panification exprimés par le volume des pains.

Ces observations trouvent leur explication dans le fait que l'indice W de Chopin, au même titre d'ailleurs que l'indice Zeleny, est une expression de la force des blés et non nécessairement de leur valeur boulangère. Avec la technologie particulière qu'elle utilise, la panification française ne s'accommode pas, contrairement à certains autres pays, d'une gamme de force très étendue : comme les blés trop faibles, les blés de force trop élevée conduisent à des résultats médiocres. Au contraire, les blés faibles conviennent en général en pâtisserie et biscuiterie alors que les blés forts donnent satisfaction en biscotterie.

La force des blés est donc le critère qui définit leur valeur d'utilisation sous l'angle le plus large et, en ce sens, la signification des tests W et Zeleny dépasse très notablement le seul domaine de la panification. La force étant en outre étroitement tributaire du patrimoine génétique, on voit tout l'intérêt que peuvent présenter, en sélection, les critères susceptibles d'exprimer cette caractéristique.

Il va de soi que des méthodes telles que l'alvéographe ou les essais de cuisson type boulanger, qui réclament des quantités importantes de matière première, sont inapplicables en sélection précoce.

La nécessité de pouvoir apprécier le potentiel technologique des lignées dès les premières générations, nous a donc conduits à mettre en œuvre et à comparer un certain nombre de tests miniaturisés capables de rendre compte de ce potentiel et d'être appliqués précocement.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Les matériels d'étude ont consisté en diverses variétés et lignées de Blé tendre, cultivées dans différentes Stations d'Amélioration des Plantes de l'I. N. R. A., et réparties sur 3 années de production de 1970 à 1973. Conjointement aux variétés françaises les plus cultivées (en majorité blés d'hiver), ont été examinées des variétés étrangères, notamment mexicaines, où prédominaient

(1) E.U.C.A.R.P.I.A. : European Association for Research on Plant Breeding.
(2) A.P.A.P. : Association pour l'Amélioration des Plantes.

les blés de printemps. Ce choix a permis de constituer un échantillonnage de caractéristiques de force très diversifiées. Les conditions d'obtention des farines expérimentales utilisées respectivement pour les tests classiques et les tests miniaturisés ont été regroupées dans le tableau 1.

Les méthodes courantes telles que l'essai de panification type C.N.E.R.N.A., l'alvéographe, l'essai Zeleny et le dosage des protéines totales selon Kjeldahl, suffisamment connues, seront simplement citées pour mémoire. Certaines d'entre elles sont décrites en détails dans la brochure sur « le Contrôle de la Qualité des Blés » publiée par l'I.T.C.F. (1) (Mauze *et al.*, 1972).

Les tests miniaturisés mis en œuvre ont été les suivants :

— *Essai de cuisson* sur 40 g de farine selon le protocole expérimental antérieurement décrit (Bourdet et Berrier, 1973).

— *Taux d'hydratation des farines* déterminé au microfarinographe Brabender sur des prises d'essai de 10 g pour une consistance constante des pâtes de 300-350 UB.

— *Microfarinogramme sur moutures entières* (10 g grains broyés) selon la technique à hydratation constante (70 p. 100) utilisée par Leclercq (1961) sur 50 g. La consistance des pâtes obtenues après un pétrissage de 12 minutes permet de déterminer une surface S cm^2 extérieure à la courbe qui combine les mesures de consistance et de développement.

— *Absorption acide* déterminée dans les conditions décrites par Finney et Yamazaki (1946) avec de légères modifications : prise d'essai 2 g, centrifugation 14 000 tr/mn.

— *Mixogramme* permettant d'apprécier l'évolution des caractéristiques rhéologiques des pâtes de farine (40 g) de même consistance (300-350 UB) par mesure du couple au cours du pétrissage, à l'aide d'un dispositif enregistreur inspiré du montage décrit par (Voisey *et al.*, 1966). Parmi les différents paramètres utilisables, on a retenu le temps T (min.) nécessaire pour atteindre le couple maximum et la surface S (cm^2) délimitée par la courbe au couple maximum, elle-même en relation avec l'énergie absorbée par la pâte depuis le début du pétrissage.

— *Rapport gluténine/gliadine*, établi à partir des taux respectifs de ces 2 groupes protéiques déterminés selon le protocole de solubilité différentielle antérieurement décrit (Bourdet *et al.*, 1972).

— *Gluténine soluble*, après réduction dosée en utilisant le schéma précédent, le résidu insoluble après extraction des gliadines étant alors traité par l'acide acétique 0,1 N en présence de mercaptoéthanol 0,1 M (Fleury, 1974).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Comparativement aux macrotests mis en œuvre dans les derniers stades de la sélection, le tableau 1 indique les quantités de grain ou de farine nécessaires à la réalisation des microtests, la durée moyenne de chaque essai (mouture non comprise) ainsi que les types de moulins expérimentaux à utiliser et les taux d'extraction correspondants.

L'obtention des farines expérimentales destinées aux macrotests implique un conditionnement des grains d'environ 24 heures ; il faut 20 minutes pour effectuer une mouture de 500 g de grain en vue de l'essai à l'alvéographe ; il faut entre 1 h 30 à 3 h selon le type de blé pour préparer les farines destinées à l'essai de panification type C.N.E.R.N.A.

Pour les essais miniaturisés, et exception faite des échantillons anormalement secs, on n'effectue pas de conditionnement et une mouture de 100 g de grains demande environ 8 minutes, y compris le nettoyage du moulin.

Dans cette étude, le test de cuisson a été pris comme référence parce qu'il est la résultante des nombreux paramètres connus et inconnus de la qualité, et qu'il en fournit une expression directe. Tous les autres critères utilisés ne rendent compte qu'indirectement de tels ou tels aspects particuliers de cette qualité. Certains, comme le mixographe et le microfarinographe, expriment les caractéristiques rhéologiques

(1) I.T.C.F. : Institut technique des Céréales et des Fourrages.

TABLEAU I

Tests d'appréciation de la qualité des blés comparativement en sélection avancée et précoce quantités requises et durée des opérations

	Macro-tests		Micro-tests							
	W Alvéogr.	Essai Panificat.	Essai Cuisson	Mixo-graphe	Absorption acide	Taux hydratation	Fractions protéiques	Protéines Kjeldahl	Micro-Farino grains	Indice Zeleny
Quantités nécessaires par essai (g) grain	500	3 000	← 100 →					2	10	50
Quantités nécessaires par essai (g) farine	250	2 000	← 40 →		2	10	0,05 à 1	—	—	3,2
Durée moyenne de l'essai (mouture non comprise) (h)	3	5 1/2	5 1/2	1	1	1/2	24 à 48	1 1/2	1/4	1/3
Type moulin utilisé	← Buhler-Miag →		← Brabender Junior →					← Broyeur Culatti →		Sédimat
Taux extraction (%)	← 70-75 →		← 62-65 →					← 100 →		15

des pâtes. D'autres font appel, soit à la capacité d'hydratation des farines pour une même consistance de pâte, soit aux aptitudes de gonflement des protéines du gluten en milieu acide (test d'absorption par centrifugation et indice Zeleny). D'autres enfin s'adressent plus directement au matériel protéique des blés et des farines, qu'il s'agisse de son importance quantitative globale (protéines totales), des proportions relatives de certains groupes (rapport gluténine/gliadine) ou des caractéristiques de solubilité, après réduction, de cette fraction difficilement soluble qu'est la gluténine.

Pour les raisons exposées plus haut, le test de cuisson a été mis au point en délaissant délibérément les conditions de la technologie française. Nous nous sommes inspirés des essais de même nature pratiqués dans la plupart des pays producteurs de blé et par certains points (addition d'agents oxydants, élimination du facteur limitant que peut être l'activité amylolytique dans la production des sucres fermentescibles, cuisson en moules...) l'essai s'apparente à ce que le C.T.P.S désigne par « panification type européen ».

Considérant que le W alvéographique et l'indice Zeleny constituent actuellement les tests technologiques de base auxquels il est fait référence en sélection avancée et lors de la présentation des nouvelles variétés au Catalogue, nous avons cherché à préciser leur interdépendance. Nous avons fait de même pour ce qui concerne le W alvéographique et la principale donnée expérimentale fournie par le microtest de cuisson (volume du pain), considéré comme essai de référence pour la sélection précoce.

Les résultats du tableau 2 rendent compte de ces relations.

TABLEAU 2

Correlations macrotest W ⟷ *microtests*

(Essai de cuisson. Indice Zeleny)

W alvéographe ⟷ Indice Zeleny		W alvéographe ⟷ Volume pain (micro-cuisson)		
Nbre d'échantillons	103	Nbre d'échantillons	44	95
W { extrêmes	50-380	W { extrêmes	50-380	38-380
W { moyenne	*210*	W { moyenne	*229*	*186*
Zeleny { extrêmes	15-67	Vol. pain { extrêmes	500-1050	475-900
Zeleny { moyenne	*37*	Vol. pain { moyenne	*832*	*722*
r =	**0,86**	r =	**0,72**	**0,68**
y Zel. =	0,12 W + 10,1	y Vol. =	1,02 W + 596 (blés forts dominants)	0,82 W + 567 (blés moyens et faibles dominants)

Le fait que W apparaisse très significativement associé à l'indice Zeleny, confirme les observations faites antérieurement (BOURDET, 1963), dans des conditions expérimentales d'ailleurs différentes. Dans la première étude, les 2 critères avaient été déterminés sur des farines extraites à 70-72 p. 100 ; dans le cas présent, le W a été effectué sur des farines de même type alors que l'indice Zeleny a utilisé des farines extraites à environ 15 p. 100, conformément aux normes actuelles.

Les corrélations également significatives qui associent W et les données de la microcuisson mettent bien en évidence d'autre part que le volume du pain obtenu dans ces conditions est effectivement une expression directe de la force des blés. On notera toutefois que l'équation de la droite de régression apparaît différente selon qu'il s'agit d'un échantillonnage où prédominent soit les blés forts, soit les blés moyens et faibles, cette dernière catégorie étant plus représentative des variétés françaises.

Nous avons rassemblé d'autre part dans le tableau 3 l'essentiel des résultats expérimentaux (valeurs extrêmes et moyennes) obtenus à l'aide des différents microtests examinés à partir d'échantillons très diversifiés. Les seules variétés françaises offrant de ce point de vue une gamme trop étroite, nous avons dû faire appel, notamment pour les blés de force élevée, à un assez grand nombre de variétés étrangères. On notera que le volume moyen des pains est fortement abaissé dans les cas où cet échantillonnage n'a pu être suffisamment diversifié (Microfarinographe grains et rapport gluténine/gliadine).

A titre de comparaison, nous avons cru bon de mentionner également les résultats obtenus à l'aide du test Pelshenke, par nos collègues de la Station d'Amélioration des Plantes de Clermont-Ferrand, dans les cas où nous avions de notre côté procédé aux essais de cuisson.

Figurent par ailleurs dans le même tableau, les coefficients de corrélation simple reliant chacun des critères considérés au volume des pains, ainsi que l'équation des droites de régression correspondantes.

On constate qu'à l'exception du taux d'hydratation des farines et du rapport gluténines/gliadines (significatif à 95 p. 100, mais échantillonnage trop limité), tous les critères examinés apparaissent associés plus ou moins étroitement à la caractéristique principale du produit de cuisson qu'est le volume du pain.

C'est la surface au maximum du diagramme mixographe, suivie par le temps mis par la pâte à atteindre cette résistance maximum qui, compte tenu du nombre d'échantillons examinés, conduisent aux corrélations les plus élevées. Les diagrammes de la figure 1 fournissent quelques exemples caractéristiques des relations ainsi mises en évidence.

L'indice Zeleny, ainsi que le test d'absorption acide, l'un et l'autre reposant sur le même principe, sont de même très significativement associés au volume du pain. Pour ce second test, la corrélation est très nettement abaissée lorsque l'échantillonnage est constitué en majorité de blés de printemps, le plus souvent de force élevée et de structure vitreuse.

Le critère surface fourni par le microfarinographe en travaillant sur mouture entière de grains, à hydratation constante, apparaît également significatif. Bien qu'obtenus à partir d'un échantillonnage limité, ces résultats confirment indirectement les observations de Leclercq (1961) selon lesquelles cette surface est significativement reliée au W de l'alvéographe.

A en juger par la corrélation significative de 0,56 obtenue, et compte tenu du nombre d'échantillons examinés (188) on ne peut conclure que la teneur des blés en protéines totales soit sans influence sur le comportement à la cuisson. On ne peut davantage conclure que cette influence soit prépondérante. Il eût été sans doute intéressant, si nous avions pu disposer de l'échantillonnage nécessaire, de vérifier les observations des céréalistes américains selon lesquelles c'est seulement au niveau

TABLEAU 3

Corrélations entre différents microtests et l'essai de référence (micro-cuisson)

	Protéines totales (p. 100 s.s.)	Indice Pelshenke (min)	Indice Zeleny (ml)	Taux d'hydratation (%)	Absorption acide (%)	Mixographe		Micro Farino grain (cm^2)	Gluténines / Gliadines	Gluténine réduite soluble (p. 100 Prot. T.)
						temps format. (min)	S au maxi (cm^2)			
Nbre échantillons	188	58	88	209	209	195	195	28	28	33
Micro tests extrêmes	9,9-17	40-229	12-62	56-76	102-198	2,5-12	8-67	2,7-35,2	0,64-1,25	15,7-25,2
Micro tests moyenne	*12,7*	*147*	*33*	*64*	*146*	*4,5*	*27*	*9,5*	*0,94*	*17,5*
Vol. pain extrêmes	475-1 050	300-1 100	500-1 050	425-1 050	425-1 050	475-1 050		350-750	350-750	300-1 050
Vol. pain moyenne	*740*	*818*	*765*	*785*	*787*	*750*		*592*	*592*	*755*
Coefficients de corrélation r =	0,56	0,37*	**0,70**	0,11	**0,66**	**0,75**	**0,79**	0,54**	0,41**	**0,70****
Équation droite régression	49 + 115	—	7,6 + 513	—	4,3 + 156	58 + 489	10,3 + 471	—	—	53,5-365 GS
y vol. =	Prot		Zel		Abs	Min	cm^2			

N. B. : limites de signification de r : sécurité 99 p. 100.

* n = 58 : 0,34
** n = 28 : 0,48
*** n = 33 : 0,45.

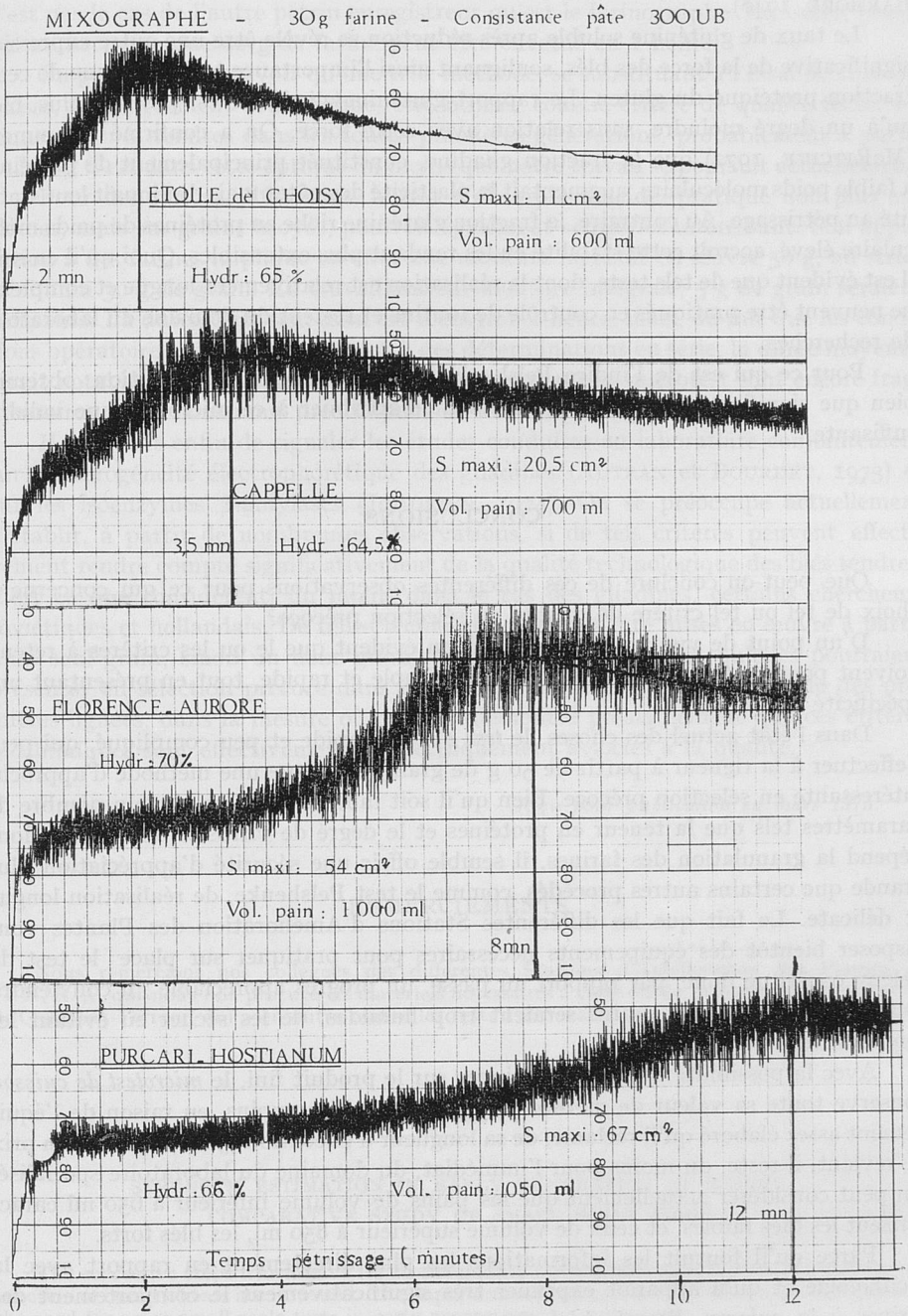


FIG. 1. — *Mixographe. Diagrammes types de 4 variétés de Blé tendre*

de chaque variété qu'il y a proportionnalité directe entre les 2 critères (FINNEY et BARMORE, 1948).

Le taux de gluténine soluble après réduction se révèle être une autre expression significative de la force des blés, soulignant ainsi l'importance technologique de cette fraction protéique du gluten. Le rapport gluténine/gliadine n'est pas non plus, bien qu'à un degré moindre, sans relation avec cette force. On a confirmé récemment (MCRITCHIE, 1972) que la fraction gliadine, constituée principalement de protéines à faible poids moléculaire, augmentait la plasticité des pâtes mais diminuait leur stabilité au pétrissage. Au contraire, la fraction gluténine riche en protéines de poids moléculaire élevé, accroît cette stabilité en les rendant plus extensibles. Quoi qu'il en soit, il est évident que de tels tests, dont la réalisation est relativement longue et complexe, ne peuvent être pratiqués en contrôle de routine et restent du domaine du laboratoire de recherches.

Pour ce qui est de l'indice Pelshenke, on constate que la corrélation obtenue, bien que significative, permet difficilement d'attribuer à ce microtest une validité suffisante.

CONCLUSIONS

Que peut-on conclure de ces différentes observations pour ce qui concerne le choix de tel ou tel critère de qualité en sélection précoce?

D'un point de vue pratique, il est bien évident que le ou les critères à retenir doivent pouvoir être d'exécution à la fois simple et rapide, tout en présentant une spécificité suffisante.

Dans l'état actuel des choses, le *test Zeleny*, rapide et peu compliqué, qui peut s'effectuer à la rigueur à partir de 50 g de grain, constitue une méthode d'approche intéressante en sélection précoce. Bien qu'il soit influencé par un certain nombre de paramètres tels que la teneur en protéines et le degré de vitrosité des grains, dont dépend la granulation des farines, il semble offrir une sécurité d'appréciation plus grande que certains autres procédés, comme le test Pelshenke, de réalisation longue et délicate. Le fait que les différentes Stations d'Amélioration des Plantes vont disposer bientôt des équipements nécessaires pour pratiquer sur place le test de Zeleny constitue donc, par rapport au passé, un progrès appréciable ; il conviendra toutefois au cas où les grains seraient trop humides, de les sécher en évitant les températures trop élevées.

Avec la possibilité qu'il offre de juger sur le produit fini, le *microtest de cuisson* conserve toute sa valeur de méthode de référence. Néanmoins, en raison de l'équipement assez élaboré qu'il réclame, de sa longueur d'exécution (5 h 1/2) et de son prix de revient, il reste, du moins pour l'immédiat, du domaine du laboratoire spécialisé. On peut considérer actuellement que les pains de volume inférieur à 650 ml caractérisent les blés faibles, et ceux de volume supérieur à 850 ml, les blés forts.

Parce qu'il fournit les informations les plus directement en rapport avec la technologie et qu'il apparaît exprimer très significativement le comportement des farines à la cuisson, l'*essai rhéologique au mixographe* nous semble présenter un incontestable intérêt. Il permet, en travaillant sur des pâtes de consistance égale, tenant compte de la capacité d'hydratation propre à chaque farine, d'enregistrer

leurs caractéristiques au cours d'un pétrissage très proche de la pratique, ce qui n'est pas le cas de l'autre pétrin enregistreur qu'est le farinographe. En outre, l'essai qui ne nécessite que 40 g de farine peut être effectué en 1 heure.

On peut donc concevoir qu'une telle méthode, se substituant à l'essai de cuisson, puisse, à relativement court terme, être utilisée comme critère de qualité technologique des blés tendres dans les toutes premières générations, probablement à partir de la F_3. C'est dans cette optique du moins que notre travail se poursuit actuellement.

Pour des raisons différentes, le test d'absorption acide, pratiqué non plus sur farines, mais sur grains broyés, pourrait également se révéler intéressant. Son application à des farines implique en effet une mouture mettant en œuvre 50 g, au strict minimum 30 g de grain. En travaillant sur mouture intégrale, 5 g de grain seraient suffisants. La durée d'un seul essai est d'environ 1 heure, mais, du fait que les conditions opératoires se prêtent aisément à des déterminations en série, la durée moyenne serait notablement abaissée. Nos résultats concernant ce microtest sont encore fragmentaires, mais nous nous préoccupons de les compléter.

Il convient enfin de signaler les études conduites au laboratoire conjointement sur l'hétérogénéité électrophorétique des gliadines (Autran et Bourdet, 1973) et sur les isoenzymes β-amylases (Joudrier, 1974). On se préoccupe actuellement d'établir, à partir de nombreuses observations, si de tels critères peuvent effectivement rendre compte significativement de la qualité technologique des blés tendres. C'est ce que considèrent, du moins dans le cas des gliadines, certains chercheurs soviétiques et hollandais. De telles techniques pouvant être mises en œuvre à partir d'un seul grain, sinon un demi-grain, on devine tout l'intérêt qu'elles pourraient présenter en sélection précoce dans le choix des géniteurs et dans l'étude des premières lignées, dans la mesure où on aura démontré préalablement que ces critères biochimiques sont effectivement et spécifiquement associés à la qualité.

Reçu pour publication en mars 1975.

REMERCIEMENTS

Nous remercions nos collègues des différentes Stations d'Amélioration des Plantes de l'I. N. R. A. qui nous ont procuré les matériels nécessaires à cette étude, et notamment la Station de Clermont-Ferrand qui a en outre réalisé les tests Pelshenke.

SUMMARY

STRENGTH ESTIMATION IN EARLY GENERATION OF WHEAT.
COMPARATIVE STUDY OF SMALL SCALE TESTS

The successive steps which have led to the quality criteria now used in France for advanced selection of bread wheats are reviewed. The importance of strength for wheat utilization value and the need for using small scale tests in early generations is emphasized.

Rheological, physical, chemical methods and a baking test using small amounts of grain (100 g ab) were applied to series of french and foreign wheat lines and varieties, grown in France between 1970-1973 and sampled for a large strength range.

The bread volumes obtained in the small scale baking test exhibit a highly significant correation with the W alveograph indexes used as criteria in the later stage selection. On the other hand, lcorrelation coefficients between bread volumes and other indirect tests give evidence that some mixograph data, the Zeleny value, the acid water retention capacity index as the microfarinograph meal test are significantly associated with strength. It is not the case for protein content, the Pelshenke meal test and flour water absorption.

The glutenin/gliadin ratio and the rate of soluble reduced glutenin seem to be also a valuable expression of strength. Nevertheless, these criteria are time consuming and do not allow a practical application.

Next to the usefulness of a micro baking test used as a reference, the practical interest of the Zeleny test, easier to perform, is confirmed. Particular attention must be equally paid to the mixograph test, also simple and fast, but more specific, which would be a useful small scale test for wheat strength determination in early generations.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ALEXINSKY V., DUBOIS M., 1951. Variétés et valeur boulangère des blés cultivés en France. Observation sur les blés de la récolte 1950. *Bull. anc. Élèves Éc. fr. Meun.*, nº 121, 8-12.

ARPIN M., PECAUD M. T., 1923. Le Blé. Production, Industries de transformation, Commerce. *C. R. de la Semaine Nationale du Blé.* 24 janvier.

ARPIN M., PECAUD M. T., SCHRIBAUX M., 1926. Recherches sur la valeur boulangère des blés français. *Meunerie Française*, nº 435, 1-24.

AUTRAN J. C., BOURDET A., 1973. Nouvelles données permettant l'exploitation de l'hétérogénéité des gliadines du grain de blé en vue d'une identification variétale. *C. R. Acad. Sci.*, Série D, **277**, 2081-84.

BATTAIL J., GÉRARD R., 1966. Essai de cuisson biscottier. Principes et perspectives. *Ind. alim. agric.*, **83** (5), 565-571.

BORMANS P., 1931. La valeur boulangère des blés. Orientation donnée dans ce but à la sélection. *C. R. Ch. rég. Agric. Nord et Ile-de-France*, Juin, 30-40.

BOURDET A., 1963. Une méthode simple et rapide d'appréciation de la force des blés et des farines, l'essai de sédimentation. État actuel des travaux. Résultats préliminaires sur différentes variétés françaises et européennes. *Meunerie Française*, nº 190, 18-29, nº 191, 25-31.

BOURDET A., LECLERCQ J. R., 1970. Sur les critères d'appréciation de la qualité boulangère des blés au niveau européen. *Technique des Industries céréalières*, nº 127, 128, 129.

BOURDET A., BERRIER R., LECLERCQ J. R., 1971. Signification technologique des critères dont dispose la sélection pour apprécier l'aptitude boulangère des variétés nouvelles. *Meunerie Française*, nº 275 et 276.

BOURDET A., BERRIER R., AUTRAN J. C., 1972. Critères industriels et critères de sélection pour apprécier la valeur d'utilisation des blés tendres. *Ann. Technol. agric.*, **21** (2), 163-181.

BOURDET A., BERRIER R., 1972. La panification expérimentale au laboratoire et au fournil dans l'appréciation des blés tendres. *C. R. Acad. Agric.*, **58** (1), 65-74.

BOURDET A., BERRIER R., 1973. Micro-essai de cuisson pour différencier les variétés de blé tendre selon leur force. *C. R. Acad. Agric.*, **59** (1), 59-65.

CHOPIN M., 1921. Relations entre les propriétés mécaniques des pâtes de farine et la panification. *C. R. Acad. Sci.*, **172**, 450-452.

CNERNA, 1969. Centre National Études et Recherches sur la Nutrition et l'Alimentation. Groupe Essai de Panification. Méthode directe, pétrissage intensifié (non publié).

CRÉPIN C., 1934. L'amélioration de la valeur boulangère de nos blés. *J. Agric. prat.*, 21 Juillet, 53-54

DE LA GUÉRIVIÈRE J. F., BENOUALID K., SEINCE Y., 1971. Essai de cuisson biscuitier. *Bull. C.T.U.* nº 1 (nouvelle série), Annexe II, p. 14, Janvier.

FINNEY K. F., BARMORE M. A., 1948. Loaf volume and protein content of hard winter and spring wheats. *Cereal Chem.*, **25** (5), 291-312.

FINNEY K. F., YAMAZAKI W. T., 1946. Water retention capacity as an index of the loaf volume potentialities and protein quality of hard red winter wheats. *Cereal Chem.*, **23** (4), 416-427.

FLEURY B., 1974. Solubilité des gluténines et comportement des blés tendres à la cuisson (travail non publié).

JOUDRIER P., 1974. Spécificité génétique de la β amylase chez *Triticum aestivum* : existence de cinq types variétaux de zymogrammes. *C. R. Acad. Sci.*, Série D, **278**, 1777-1780.

LECLERCQ J. R., 1961. La force boulangère des blés et son appréciation au cours de la sélection. *Ann. Technol. agric.*, **10** (3), 257-288.

LEMOIGNE M., DUPIC H., 1936. Essais de panification des blés récoltés dans le Cambrésis en 1935. *C. R. Acad. Agric.*, **22**, 913-920.

LOEB J., 1933. La valeur boulangère des blés de la récolte 1932. Essais de panification. Centre nat. Exper. agric.

MCRITCHIE F., 1972. Fractionation and properties of gluten proteins. *J. Macrobiol. Sc. Chem.*, **6** (4), 823-829.

MAUZE C., RICHARD M., SCOTTI G., 1972. *Guide pratique du contrôle de la qualité des blés*. I.T.C.F., Janvier, 176 pages.

NURET H., 1954. Valeur boulangère et W. *Bull. anc. Élèves Éc. fr. Meun.*, n° 143, 206-212.

O.N.I.C.-I.T.C.F., 1969-70. Le classement des Céréales. Méthodes analytiques pour la détermination des critères de qualité. Brochure, 26 pages.

PÉCAUD M. T., 1927. Essais de panification. C.R. de CERCO, *Ire Conférence internationale sur la farine et le pain*. Prague, 22-25 Septembre.

SCHAEFFER W., 1956. Beodachtungen über den Sedimentationstest nach Zeleny bei deutschen Weizensorten. *Die Mühle*, **93**, 571-72 et 590-91.

SCHRIBAUX M., 1929. La valeur boulangère des blés cultivés en France. *Bull. Assoc. intern. Sélectionneurs Plantes grande Culture*, **2** (3), 102-125.

SCHRIBAUX M., 1930-1931. Recherches sur la valeur boulangère des blés de diverses origines de 1928 et de 1929. *Meunerie française*, n° 490-491, 13-19.

SEIBEL W., 1960. Bestimmung der Weizenqualität mit dem Sedimentationswert nach Zeleny. *Getreide und Mehl*, **10**, 117-122.

VOISEY P. W., MILLER H., KLOEK M., 1966. An electronic recording dough mixer. *Cereal Chem.*, **43**, 408-419.

ZELENY L., 1947. A simple sedimentation test for estimating the bread baking an gluten qualities of wheat flour. *Cereal Chem.*, **24**, 465-475.

ZELENY L., GREENAWAY V. T., GURNEY G. M., FIFIELD C. C., LESBOCK K., 1960. Sedimentation value as an index of dough mixing characteristics in early generation wheat selections. *Cereal Chem.*, **37**, 673-682.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (2), 279-284.

STÉRILITÉ INDUITE CHEZ LE PÉTUNIA. CORRÉLATION ENTRE LES FERTILITÉS POLLINIQUE ET OVULAIRE

Indra Sen SINGH

Laboratoire de Mutagenèse,
Station d'Amélioration des Plantes,
Centre de Recherches de Dijon, I. N. R. A.,
BV 1540, 21034 Dijon Cedex

RÉSUMÉ

Chez le Pétunia, une estimation de fertilité ovulaire a été réalisée pour déterminer la corrélation éventuelle entre la fertilité pollinique et la fertilité ovulaire. Deux lignées de Pétunia, TL-h_1 et Sf-1a, leur hybride F_1 et une série de mutants à pollen stérileisolés dans cette F_1 après mutagenèse ont été observés. Plusieurs données sur la fertilité pollinique, sur le nombre d'ovule par ovaire et le nombre de graines par capsule ont été obtenues pour chaque génotype. La fertilité ovulaire a été estimée au moyen de la formule suivante :

$$\frac{\text{nombre moyen de graines par capsule}}{\text{nombre moyen d'ovules par ovaire}} \times 100.$$

L'analyse de variance a mis en évidence :

(1) une composante de variabilité intergénotypes hautement significative,
(2) une différence hautement significative entre les sexes, et,
(3) une interaction génotypes × sexes hautement significative.

On a trouvé un coefficient de corrélation positif hautement significatif entre la fertilité pollinique et la fertilité ovulaire. Ainsi, on constate que les fertilités pollinique et ovulaire sont affectées dans le même sens dans les différentes souches mutantes utilisées, mais d'une manière différente d'un génotype à l'autre.

INTRODUCTION

Chez le Pétunia, quelques plantes à pollen stérile ont été isolées dans la génération M_1 après traitement des zygotes au méthane-sulfonate d'éthyle (MSE) et aux rayons gamma (Singh, 1975). Parmi ces plantes à pollen stérile, quelques-unes,

fécondées par le pollen d'une lignée hautement fertile, n'ont pas produit de graines. Ceci amène à penser qu'il peut exister une relation entre les fertilités pollinique et ovulaire.

Cette note présente une méthode d'estimation de la fertilité ovulaire chez le Pétunia ainsi que le calcul de la corrélation entre les fertilités pollinique et ovulaire dans un ensemble de génotypes obtenus par mutagenèse.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le matériel utilisé est constitué par deux lignées, TL-h_1 et Sf-1a, leur F_1 hybride et une série de mutants choisis dans cette F_1 pour leur stérilité pollinique. Cinq jours après la pollinisation, les zygotes hybrides formés par le croisement (TL-h_1 × Sf-1a) avaient été traités séparément par une solution de MSE à 0,2 p. 100 ou par le rayonnement gamma du ^{60}C à une dose de 750 R. Les fertilités polliniques des plantes M_1 hybrides, du témoin et des deux lignées parentales avaient été établies sur la base de cinq fleurs prises au hasard sur chaque plante. Quelques plantes M_1 à pollen stérile ont été choisies dans chaque traitement (SINGH, 1975).

Cinq boutures de chacun des mutants ainsi sélectionnés dans la F_1 et les deux lignées parentales (TL-h_1 et Sf-1a) ont été maintenues en serre. A la floraison, cinq fleurs par bouture ont été prises au hasard et tous les ovules de chaque ovaire ont été raclés sur une lame porte-objet dans une goutte de solution sucrée à 8 p. 100 additionnée d'une goutte d'acéto-carmin. Le nombre moyen d'ovules par ovaire sur chaque bouture a été observé.

Cinq fleurs de chaque bouture ont été pollinisées par la F_1, qui est un génotype hautement fertile. Les capsules ont été récoltées et le nombre moyen de graines par capsule a été observé pour chaque bouture. La fertilité ovulaire de chaque bouture a été estimée comme suit :

$$\frac{\text{nombre moyen de graines par capsule}}{\text{nombre moyen d'ovules par ovaire}} \times 100.$$

La fertilité pollinique p. 100 de chaque bouture a été déterminée sur cinq fleurs prises au hasard. La coloration des grains de pollen a été faite par la solution d'ALEXANDER (1969).

Comme les données en p. 100 (X) sur les fertilités pollinique et ovulaire montraient une variation très grande, elles ont été transformées en valeurs angulaires (arcsin $\sqrt{X}$) avant d'être analysées suivant un modèle factoriel fixé.

RÉSULTATS ET CONCLUSIONS

(1) Le nombre moyen des ovules par ovaire d'une plante varie d'un génotype à l'autre, mais il a toujours été plus grand que le nombre moyen des graines par capsule de la même plante (tabl. 1). Ainsi, l'estimation de la stérilité ovulaire par cette méthode est plus précise que d'autres comme le poids des graines par capsule ou le nombre de graines formées par capsule rapporté au nombre des graines par capsule chez le témoin. Cette précision est due à la détermination du nombre d'ovules formés qui varie nettement d'un génotype à l'autre.

(2) Quand on observe une forte stérilité pollinique induite, on peut s'attendre à une forte stérilité ovulaire (tabl. 1).

(3) Sur la base de l'analyse de variance présentée dans le tableau 2, on peut tirer les conclusions suivantes :

TABLEAU I

Fertilités ovulaire et pollinique (données non transformées)

Génotype (lignée et mutant)	Nombre des ovules/ovaire		Nombre des graines/capsule		Fertilité ovulaire p. 100	Fertilité pollinique p. 100	
	Étendue (Écart maximum)	Moyenne	Étendue (Écart maximum)	Moyenne		Étendue (Écart maximum)	Moyenne
TL-h_1	472-503	483,8	382-453	417,4	86,3	33,0-61,8	50,7
SF-1a	277-298	291,6	129-270	221,2	75,9	64,8-80,7	71,3
TL-h_1 × Sf-1a (témoin)	490-514	504,6	360-471	422,4	83,7	87,2-91,2	89,1
Total		1 280,0		1 061,0	245,9		211,1
Moyenne		426,7		353,7	82,0		70,4
16 A	222-245	231,6	75-120	94,4	40,8	15,9-42,9	25,7
136 B	439-455	448,0	35-58	48,8	10,9	3,0-12,4	7,2
175 B	302-333	313,4	32-38	35,6	11,4	24,8-37,3	29,5
209 C	347-368	358,8	174-225	195,0	54,3	46,9-51,2	48,5
246 A	169-183	175,0	6-15	10,2	5,8	1,1-3,3	2,1
1540 D	325-344	334,4	103-142	126,8	37,9	43,2-49,1	47,4
1640 C	243-262	253,4	48-75	61,4	24,2	1,0-11,4	6,1
1667 E	319-344	335,4	37-73	49,6	14,8	4,2-23,8	13,3
1706 D	357-386	372,2	97-136	123,8	33,3	38,1-44,4	40,8
1718 B	225-244	235,0	32-50	40,8	17,4	0,7-9,1	4,7
1744 C	429-443	438,6	156-188	172,2	39,3	25,6-42,0	35,1
1766 C	350-378	364,2	46-66	58,6	16,1	28,2-37,6	33,2
1810 A	346-375	358,2	161-188	171,2	47,8	24,1-44,6	34,9
Total		4 218,2		1 188,4	354,0		328,5
Moyenne		324,5		91,4	27,2		25,3
Total général		5 498,2		2 249,4	599,9		539,6
Moyenne générale		343,6		140,6	37,5		33,7

(*i*) L'analyse de variance montre que les génotypes constituaient une population hétérogène pour le caractère considéré (fertilité moyenne pour les deux sexes).

(*ii*) La différence entre les fertilités pollinique et ovulaire est hautement significative.

(*iii*) L'interaction significative indique que les deux facteurs (génotypes et sexes) n'ont pas une action indépendante : la différence entre les fertilités pollinique et ovulaire varie d'un génotype à l'autre.

TABLEAU 2

Analyse de variance (Modèle fixé ; données transformées en arcsin $\sqrt{X}$)

Source de variation	Degré de liberté	Somme de carrés	Carré moyen
Traitements	31	43 556,04	
Génotypes (G)	15	40 027,17	2 668,48**
Sexes (S)	1	391,69	391,69**
Interaction (G × S)	15	3 137,18	209,14**
Erreur	128	2 680,36	20,94
Total	159	46 236,40	

** Significatif à P 0,01.

(*iv*) On a estimé le coefficient de corrélation, r, entre les deux types de fertilité à 0,85 ± 0,14. On a tiré parti de l'analyse de variance (tabl. 2) pour tester la présence d'une covariance entre les deux fertilités et estimer ensuite le coefficient de corrélation correspondant. En effet, si l'on a une population de paires (ici, fertilité pollinique et fertilité ovulaire), on sait que la variance de la différence entre les deux membres de chaque paire et l'interaction génotypes × sexes (GS) sont liées de la façon suivante :

$$\sigma_1^2 + \sigma_2^2 - 2\omega = 2\sigma_{GS}^2$$

où σ_1^2 et σ_2^2 sont respectivement les variances individuelles intergénotypes des fertilités ovulaires et polliniques,

ω est la covariance individuelle entre les deux fertilités,

σ_{GS}^2 est la variance relative à l'interaction entre les génotypes et les deux sexes (types de fertilité).

En posant $\sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma^2$ (la validité de cette hypothèse a été testée sur l'échantillon étudié), on a :

$$\sigma^2 - \omega = \sigma_{GS}^2$$

ou encore

$$\sigma^2 = \sigma_{GS}^2 + \omega$$

L'analyse de variance fournit les estimations s^2, s^2_{GS} et w de σ^2, σ^2_{GS} et ω :

$$s^2 = (40\,027{,}17 + 3\,137{,}18)/30 = 1\,438{,}81$$
$$s^2_{GS} = 209{,}14$$
$$w = 1\,438{,}81 - 209{,}14 = 1\,229{,}67.$$

Le test de l'hypothèse nulle Ho : $\omega = 0$ est donc

$$F_{30,15} = \frac{1\,438{,}81}{209{,}14} = 6{,}88^{**}$$

$$r = \frac{w}{s^2} = \frac{1\,229{,}67}{1\,438{,}81} = 0{,}85$$

$$s_r = \sqrt{\frac{1 - r^2}{n - 2}} = 0{,}14$$

Tout ceci montre bien que les deux types de fertilité sont étroitement et positivement liés.

Reçu pour publication en juillet 1975.

REMERCIEMENTS

L'auteur remercie cordialement les Drs H. Dulieu du C.N.R.S., M. A. Dalebroux de la C.C.E. et P. Dommergues de l'I.N.R.A., pour leur aide précieuse dans la préparation et la discussion de ce travail.

SUMMARY

INDUCED STERILITY IN PETUNIA. CORRELATION BETWEEN POLLEN AND OVULE FERTILITIES

An estimation of ovular fertility in Petunia was carried out in order to show an eventual correlation betwen pollen and ovule fertilities. Two lines, TL-h_1 and Sf-1a, their F_1 hybrid and some pollen sterile plants isolated in M_1 after mutagenic treatments were vegetatively maintained in greenhouse. Data on pollen fertility, number of ovules per ovary and number of seeds per capsule were obtained from each genotype. The ovule fertility was calculated as follows :

$$\frac{\text{mean number of seeds per capsule}}{\text{mean number of ovules per ovary}} \times 100.$$

The analysis of variance detected :

(1) a highly significant variance component among genotypes,
(2) a highly significant difference between the sexes, and,
(3) a highly significant genotypes × sexes interaction.

A highly significant positive correlation coefficient was found between pollen and ovule fertilities. Thus, it can be concluded that pollen and ovule fertilities may be affected in the same direction in the different mutant clones studied, but in a different manner from genotype to genotype.

** : Significatif à P 0,01.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ALEXANDER M. P., 1969. Differential staining of aborted and non-aborted pollen. *Stain technol.*, **44**, 117-122.

SINGH I. SEN, 1975. Induced pollen sterility in Petunia. Mode of inheritance and tapetal behavior. *Ann. Amélior. Plantes*, **25** (3), 303-319.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (2), 285-294.

ÉTUDE DE L'ACTION DE L'ACIDE GIBBÉRELLIQUE SUR LE DÉVELOPPEMENT DES ÉBAUCHES FLORALES CHEZ LE PÊCHER : CONSÉQUENCES PRATIQUES

H. CLANET et J. C. SALLES
avec la collaboration technique d'Anne-Lise GRAS [1] et J. P. GÉRAUD [1]

Laboratoire de Recherches de la Chaire d'Arboriculture fruitière,
École nationale supérieure agronomique,
Centre de Recherches, I. N. R. A.,
34060 Montpellier

RÉSUMÉ

Des applications par pulvérisations de solutions d'acide gibbérellique aux concentrations de 25 mg/l, 50 mg/l, 300 mg/l, ont été réalisées sur Pêcher, cultivar « Cardinal », aux mois de mai et juin.

Les traitements du mois de juin se sont traduits au mois de novembre par un retard dans le processus de l'initiation florale sur un pourcentage significatif de bourgeons floraux.

Au contraire, les traitements du mois de mai n'ont été significatifs qu'à la concentration de 300 mg/l.

L'examen histologique des ébauches florales a été complété par des comptages au verger qui ont mis en évidence dans certains cas un effet d'éclaircissage.

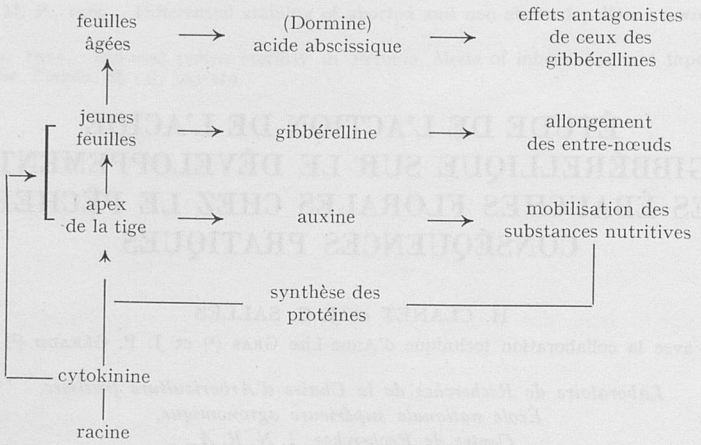
Cette étude permet en outre de préciser une époque de plus grande sensibilité des bourgeons à fleur du Pêcher (juin), à une pulvérisation d'acide gibbérellique.

INTRODUCTION

La formation des bourgeons à fleur débute généralement au printemps par l'initiation de bourgeons végétatifs à l'aisselle des feuilles sur des pousses en croissance de longueur variable. Elle est suivie d'une première phase dite d'induction florale. Si l'on admet généralement que cette phase caractérise le passage au niveau de l'apex d'un état végétatif à un état reproducteur la nature des mécanismes qui interviennent est hypothétique et controversée.

[1] En stage au laboratoire d'Arboriculture fruitière du C. R. A. M. du 1er juillet au 30 septembre 1974.

LUCKWILL (1969) a établi le schéma suivant pour rendre compte des interactions possibles entre les différents types d'hormones endogènes contrôlant la croissance des rameaux de Pommier.



Pour cet auteur, tous les apex seraient capables de se différencier en bourgeons à fleur, mais certains seraient inhibés au stade de la phase d'induction florale par les gibbérellines endogènes. Il considère comme important la concentration des cytokinines endogènes dans la sève du xylème, ceci pour empêcher l'entrée en dormance des bourgeons. La mise à fruit serait associée à une valeur optimale du rapport des concentrations de gibbérellines et de cytokinines. Ce fait est également souligné par MONSELISE et WILLIAMS (1972). Il serait cependant exagéré de considérer que l'induction florale n'est déterminée que par cet équilibre. Ces deux auteurs considèrent que les feuilles pourraient, en synthétisant des hormones antagonistes des gibbérellines manifester leur action sur la mise à fruit. Ils déterminent en outre une phase postérieure à l'induction florale qu'ils qualifient d'« évocation florale ». C'est à ce stade que l'action inhibitrice des gibbérellines se manifesterait. Elle serait caractérisée en outre par une production intense d'ARN et la synthèse des protéines liée à l'activation des gènes.

Les bourgeons à fleur passent ensuite au cours de leur formation par la phase dite d'« initiation florale ». Elle débute plus ou moins précocement. Ainsi à Bordeaux, MONET (1969) a situé le début de la formation des ébauches florales du cultivar « May-Flower », au début du mois d'août ; dans la région de Montpellier nous avons pu situer le commencement de la formation des ébauches florales pour le cultivar « Cardinal », au début de la deuxième quinzaine du mois de juillet (CLANET, BORSANI 1972). On admet généralement que cette phase est terminée avec la méiose (décembre pour le Pêcher). Ce stade est atteint dans nos régions au cours de la deuxième quinzaine du mois d'octobre. MONET (1969) constate qu'une reprise de croissance au cours de l'été des rameaux mixtes de Pêcher était suivie d'un ralentissement ou d'un arrêt de l'initiation florale en cours.

Nous avons personnellement mis en évidence la reprise de croissance du bourgeon apical et de l'allongement des entre-nœuds à la suite de pulvérisations d'acide gibbérellique à la mi-juillet.

Parallèlement une inhibition ou une perturbation importante des bourgeons floraux en formation peut être observée (CLANET et BORSANI, 1972).

Il est donc permis d'admettre que l'initiation florale est soumise aux interactions entre les hormones endogènes de la croissance.

Après CRANE et BRADLEY (1960), plus récemment, T. PRINS et H. J. J. KRUGER (1973) ont montré que des pulvérisations d'acide gibbérellique effectuées au voisinage du début de l'initiation florale réduisaient le nombre de bourgeons à fleur des rameaux mixtes du Pêcher.

Les conclusions de ces derniers travaux ont fait l'objet d'une recherche expérimentale conduite en 1974.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans la présente communication ; ils confirment ceux enregistrés par PRINS et KRUGER et précisent les conditions d'utilisation de l'acide gibbérellique comme agent d'éclaircissage chimique du Pêcher.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les expériences en verger ont été mises en place sur des arbres du cultivar « Cardinal » greffés sur franc, âgés de 10 ans.

Les applications d'acide gibbérellique ont eu lieu les 17 mai et 15 juin 1974, c'est-à-dire deux et un mois avant le début de la phase de l'initiation florale dans notre région.

Les concentrations utilisées ont été choisies en fonction des données bibliographiques, c'est-à-dire 50 et 25 p.p.m. auxquelles nous avons comparé l'action d'une concentration de 300 p.p.m. dont nous connaissions certains effets (CLANET et BORSANI, 1972).

Pour chaque date d'application et concentration utilisée le traitement a porté sur un arbre entier.

En outre, à chaque date de traitement, des arbres témoins ont été conservés et traités à l'eau pure (3-4 l).

Les différentes pulvérisations ont été exécutées à l'aide d'un appareil individuel à lance et mise en pression préalable (3 kg/cm²). La quantité de liquide pulvérisé a été de 4 litres par arbre de façon que toutes les parties de celui-ci soient convenablement traitées.

L'action des pulvérisations d'acide gibbérellique a été étudiée en laboratoire :

— par des observations microscopiques afin de suivre pour chacun des traitements précédemment définis l'évolution des pièces florales ;

— par des observations à la loupe binoculaire qui nous ont permis, sur un échantillon plus important de rameaux mixtes, d'évaluer l'importance du taux d'éclaircissage consécutif aux applications d'acide gibbérellique.

A. — *Observations en laboratoire : méthode d'étude de l'action de l'acide gibbérellique sur la différenciation des bourgeons à fleur*

Les observations en laboratoire ont porté sur trois rameaux mixtes prélevés tous les quinze jours (de juillet à octobre) pour chacun des traitements :

— arbres traités à l'acide gibbérellique le 17 mai 1974 (300 mg/l, 50 mg/l, 25 mg/l),
— arbres traités à l'acide gibbérellique le 15 juin 1974 (300 mg/l, 50 mg/l, 25 mg/l).
— arbres témoins traités à l'eau (3-4 l).

Ces rameaux sont choisis en situation comparable (longueur du rameau, position du rameau sur l'arbre).

Sur chacun de ces rameaux on prélève sur deux nœuds de niveau d'insertion identique le groupe de bourgeons associés qui s'y trouve implanté indépendamment de la composition de ce groupe (trois, deux ou un seul bourgeon).

On dispose ainsi pour chaque date de prélèvement considérée, de six groupes de bourgeons associés provenant de nœuds de même niveau. Ces groupes sont décrits, numérotés et fixés (méthode de Navashin).

Après ablation des écailles sous la loupe binoculaire, chaque groupe est inclus à la paraffine pour coupes au microtome, puis monté et coloré (coloration par le vert de méthyl-pyronine).

Les observations au microscope permettent de déterminer le stade d'évolution des bourgeons le plus représentatif pour chacun des traitements et l'époque considérée.

B. — *Observations au laboratoire : méthode d'étude de l'importance du taux d'éclaircissage dû aux pulvérisations d'acide gibbérellique*

Ces observations ont été effectuées à la mi-novembre à un moment où la différenciation des pièces florales était terminée sur les arbres témoins.

Un échantillon de dix rameaux mixtes est prélevé sur chacun des arbres. Une première mesure permet de déterminer pour chaque échantillon la longueur totale des rameaux ainsi que le nombre de bourgeons à fleur apparents portés par ces rameaux. On en déduit une première approximation du nombre de bourgeons à fleur au mètre de rameau mixte.

Chacun des groupes de bourgeons insérés aux différents nœuds est ensuite disséqué sous la loupe binoculaire. On réalise ainsi une étude plus précise du ou des bourgeons à fleur, préalablement ouverts à la lame de rasoir suivant un plan sagittal.

Cette deuxième observation permet de mettre en évidence les bourgeons ayant subi un retard de différenciation ainsi qu'un certain nombre de bourgeons à fleur dont l'évolution s'est trouvée arrêtée à un stade très précoce de la différenciation. Dans les deux cas, nous nous trouvons en présence de bourgeons à fleur non fonctionnels, dont le pourcentage, par rapport au nombre total des bourgeons à fleur de l'échantillon permet une évaluation assez précise de l'effet d'éclaircissage de l'acide gibbérellique.

RÉSULTATS

INFLUENCE DES TRAITEMENTS A L'ACIDE GIBBÉRELLIQUE SUR LA DIFFÉRENCIATION DES BOURGEONS A FLEUR DU PÊCHER

A. — *Évolution des bourgeons à fleur chez le témoin*

Les différentes observations microscopiques effectuées sur rameaux échantillons ont permis de situer l'initiation florale pour le cultivar étudié (« Cardinal ») de juillet à octobre.

Les principaux stades de cette évolution sont résumés par les figures 1 à 4.

B. — *Action de l'acide gibbérellique sur la différenciation des bourgeons à fleur*

L'acide gibbérellique appliqué dès le début de l'initiation des pièces florales (juillet) des bourgeons à fleur du Pêcher, a deux types d'action (CLANET et BORSANI, 1972) :

— une action inhibitrice totale se manifestant par l'arrêt du développement du bourgeon à fleur dès le gonflement du dôme apical ;

— une action de retard du processus de différenciation des bourgeons à fleur se traduisant par la présence de bourgeons à un stade de développement moins avancé (fig. 5, 6, 7 et 8).

Nos investigations sur l'action de pulvérisations d'acide gibbérellique effectuées un et deux mois avant le déclenchement du processus de l'initiation florale, ont mis essentiellement en évidence un retard dans le processus de la différenciation, l'inhibition totale du développement du bourgeon à fleur n'étant pas observée.

FIG. 1. — *Apex au stade préfloral ; gonflement du dôme apical* (mi-juillet)

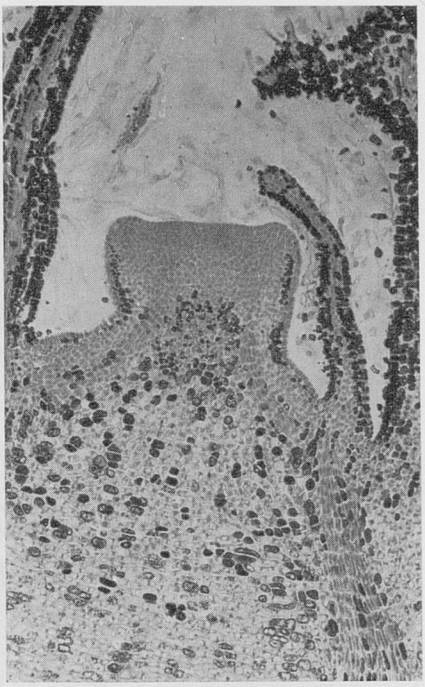


FIG. 2. — *Formation du plateau des ébauches des sépales initiation* (deuxième quinzaine d'août)

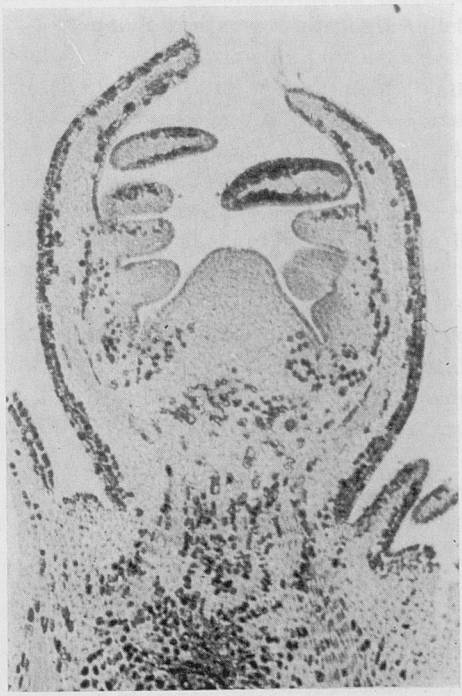


FIG. 3. — *Formation du pistil* (septembre)

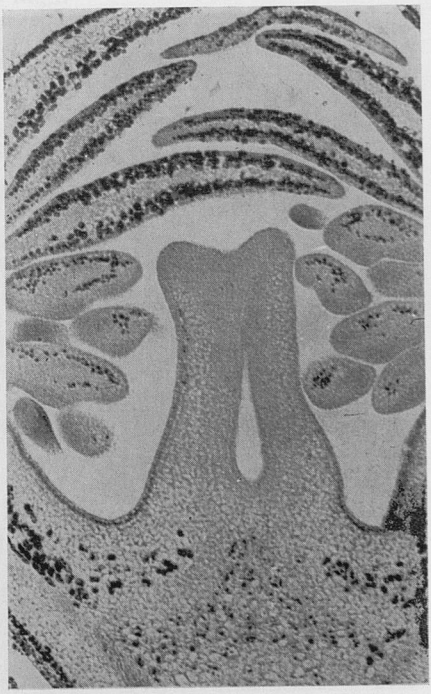


FIG. 4. — *Différenciation des pièces florales terminée* (mi-octobre)

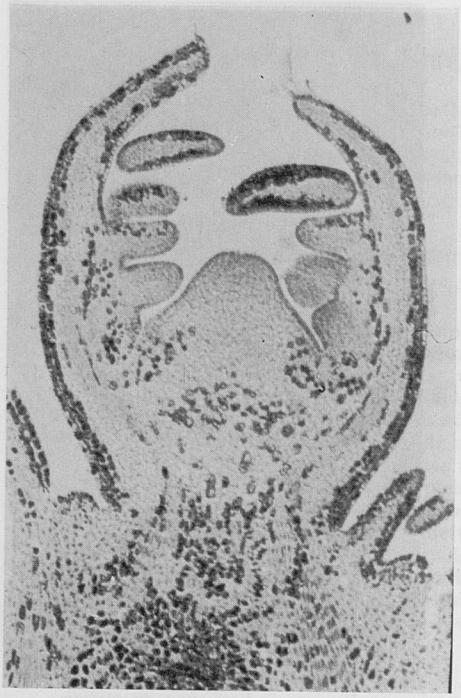


FIG. 5. — *Stade témoin* (septembre), *formation du pistil*

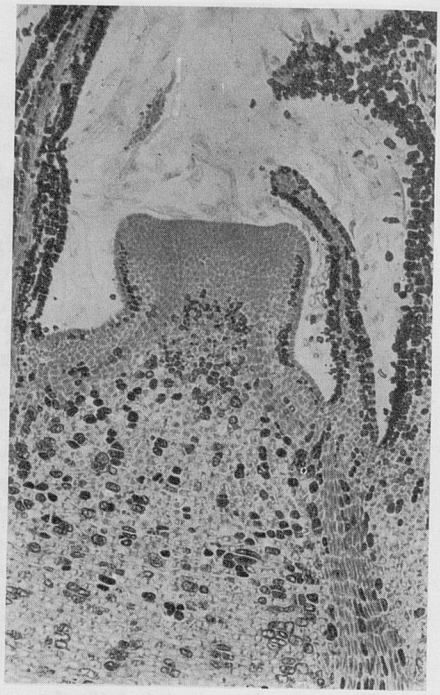


FIG. 6. — *Stade observé en septembre sur arbre traité à une concentration de 50 mg/l en juin, formation du plateau*

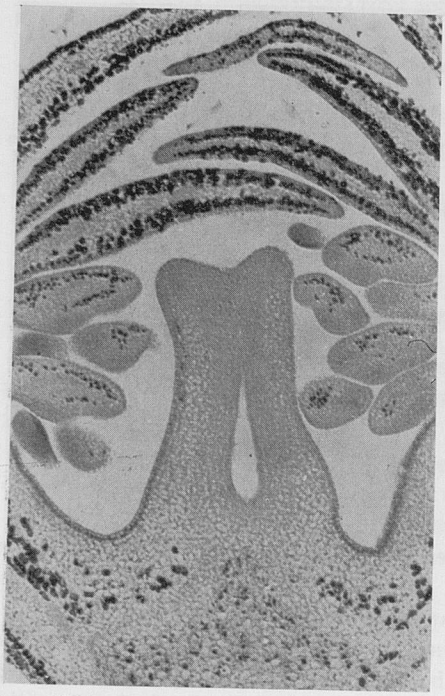


FIG. 7. — *Stade témoin* (octobre), *différenciation des pièces florales terminée*

FIG. 8. — *Stade observé en octobre sur arbre traité à une concentration de 50 mg/l en juin*

Les résultats observés sont variables et demandent une analyse plus précise en, fonction de la date du traitement et de la concentration en acide gibbérellique utilisée.

1. *Influence de la date d'application sur la présence de bourgeons à fleur présentant un retard du processus de l'initiation florale.*

Les observations ont porté sur des rameaux mixtes prélevés à la même date mais ayant reçu une pulvérisation d'acide gibbérellique le 17 mai 1974 d'une part, le 15 juin d'autre part. Pour une même concentration, le retard de différenciation est plus marqué pour les pulvérisations ayant eu lieu le 15 juin que pour celles du 17 mai, xception faite pour la plus forte concentration utilisée, c'est-à-dire 300 mg/l pour laquelle l'époque d'utilisation a très peu d'influence.

2. *Influence de la concentration utilisée sur le retard du processus de différenciation des bourgeons à fleur.*

Pour une même date de pulvérisation, l'action de l'acide gibbérellique est d'autant plus marquée que la concentration est plus élevée. Les différences observées sont cependant plus grandes entre les concentrations de 300 et 50 mg/l qu'entre les concentrations de 50 et 25 mg/l.

3. *Influence de l'interaction date d'application-concentration sur le retard du processus de différenciation des bourgeons à fleur.*

Nos investigations antérieures sur l'étude de l'action de l'acide gibbérellique sur l'évolution des bourgeons à fleur du Pêcher ont mis en évidence l'influence d'une telle interaction pour la concentration unique de 500 mg/l.

Lorsque le traitement a lieu en juillet (bourgeons à fleur au stade (*a*) défini par MONET), la perturbation des processus de l'initiation florale est sensible ; au contraire un traitement exécuté à la mi-août (bourgeons à fleur au stade (*c*) de MONET) n'a aucune conséquence significative ; les bourgeons à fleur paraissent à cette date avoir atteint un point de non retour : leur développement se poursuit d'une façon normale quel que soit l'apport d'acide gibbérellique exogène. Il est intéressant de souligner d'autre part qu'aux périodes précitées, seules les concentrations de 100, 250 et 500 mg/l avaient eu une action significative, la concentration de 50 mg/l n'ayant exercé aucun effet sensible.

Les expériences réalisées au cours des mois de mai et juin 1974 ne mettent plus en cause directement le stade précis d'évolution du bourgeon à fleur puisqu'elles se situent toutes les deux avant l'observation du stade (*a*) de MONET.

Les pulvérisations d'acide gibbérellique à la concentration de 300 mg/l permettent d'obtenir aux deux époques envisagées un retard dans le processus de l'initiation florale net et identique.

Aux deux concentrations, 50 et 25 mg/l, l'action de l'acide gibbérellique est beaucoup plus limitée et toujours plus marquée à la date du 15 juin.

La concentration de 25 mg/l ne permet pas, par une pulvérisation au 17 mai, d'obtenir d'effet significatif ; un mois plus tard, le retard dans le processus de différenciation observé avec cette même concentration, est supérieur à celui d'une concentration de 50 mg/l en traitement du mois de mai. Enfin, la concentration de 50 mg/l appliquée au 15 juin conduit à des effets significatifs, très proches de ceux consécutifs à une pulvérisation de 300 mg/l au mois de mai.

TABLEAU I

Action de pulvérisations d'acide gibbérellique sur l'évolution des bourgeons à fleur du Pêcher, cultivar « Cardinal » *à une date proche de l'initiation florale*

	Longueur de l'échantillon de rameaux mixtes en mm	Nombre total de bourgeons à fleur	Nombre de bourgeons à fleur bien évolués	Nombre de bourgeons à fleur présentant un retard de différenciation	Nombre de bourgeons à fleur au mètre	Nombre de bourgeons à fleur fonctionnels au mètre	Pourcentage d'éclaircissage de bourgeons à fleur (1)
Témoin	4,135	240	233	7	58,0	56,4	—
300 mg/l 17 mai 1974	4,115	162	132	30	39,4	32,0	43,3
300 mg/l 15 juin 1974	3,919	195	114	81	49,8	29,0	48,6
50 mg/l 17 mai 1974	4,261	221	202	19	51,9	47,4	16,0
50 mg/l 15 juin 1974	3,828	171	141	30	44,6	36,8	34,8
25 mg/l 17 mai 1974	3,391	197	187	10	58,1	55,1	2,3
25 mg/l 15 juin 1974	4,452	201	184	17	45,1	41,3	26,8

(1) Ce pourcentage est calculé par rapport au nombre de bourgeons à fleur fonctionnels au mètre observés sur témoin.

Ces résultats sont consignés dans le tableau I qui résume les observations effectuées au mois de novembre sur un échantillon de 10 rameaux mixtes par traitement.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Les pulvérisations de solutions d'acide gibbérellique de concentrations variées effectuées sur des arbres adultes du cultivar « Cardinal » durant la période précédant l'initiation florale (mai-juin), ont mis en évidence les faits suivants :

— La détermination d'une époque de sensibilité des bourgeons à fleur du Pêcher à des apports d'acide gibbérellique exogène ; cette période se situant un à deux mois avant le début de l'initiation florale (stade (*a*) de Monet).

— Une précision importante quant aux concentrations d'acide gibbérellique utilisables au cours de cette période de sensibilité précédant l'initiation florale :

a) deux mois avant le début de l'initiation florale (10-15 juillet), une concentration relativement élevée (300 mg/l) d'acide gibbérellique est nécessaire pour observer une perturbation du processus ;

b) un mois avant le stade (*a*) de Monet, un apport d'acide gibbérellique à une concentration voisine de 50 mg/l est suffisant pour provoquer une perturbation du processus de l'initiation florale.

A ces résultats, il nous a paru intéressant de joindre ceux obtenus par CLANET et BORSANI (1972), c'est-à-dire :

— Dès que le processus de l'initiation florale a commencé (début juillet), pour en obtenir la perturbation, de fortes concentrations d'acide gibbérellique (250 mg/l à 500 mg/l) sont nécessaires.

— Enfin, lorsque les bourgeons à fleur ont atteint le stade « *initiation des sépales* » (stade (*c*) de Monet), les pulvérisations d'acide gibbérellique sont sans effet ; leur développement se poursuit d'une façon normale quelle que soit la concentration d'acide gibbérellique.

L'étude morphologique de l'initiation florale des bourgeons à fleur réalisée comparativement sur des arbres traités aux mois de mai et juin à des concentrations de 300, 50, 25 mg/l et sur arbres témoins, a montré que les traitements entraînaient un ralentissement plus ou moins marqué du processus de l'initiation florale.

Les bourgeons dont la différenciation a été ainsi ralentie ne peuvent atteindre, au moment de la floraison, au printemps suivant, un stade d'évolution suffisant pour devenir fonctionnels.

Sur le plan pratique, l'effet d'éclaircissage, mis en évidence par le tableau I, tient compte avant tout des bourgeons à fleur ayant subi une perturbation de l'initiation florale.

Certains bourgeons sont cependant bloqués à un stade plus précoce ; leur évolution vers la fleur n'est alors plus possible ; cet aspect est mis en évidence par le nombre de bourgeons à fleur observés au mètre de rameaux mixtes en fonction des différents traitements et comparativement au témoin.

A la concentration de 300 mg/l, l'effet éclaircissant obtenu est satisfaisant, mais compte tenu du prix élevé de l'acide gibbérellique, un tel traitement n'est pas rentable.

Les pulvérisations aux concentrations de 25 mg/l et surtout de 50 mg/l au mois de juin, malgré leur moindre efficacité, pourraient faire l'objet d'un début d'utilisation par les praticiens.

Elles doivent permettre à l'arboriculteur placé dans des régions où les risques de gelée printanière sont réduits, d'assurer un pré-éclaircissage non négligeable de la récolte de l'année suivante, en lui laissant la possibilité de compléter en temps voulu cette action avec des frais moindres.

Reçu pour publication en avril 1975.

SUMMARY

STUDY OF THE ACTION OF GIBBERELLIC ACID
ON THE DEVELOPMENT OF FLOWER PRIMORDIA IN PEACH-TREE :
PRACTICAL CONSEQUENCES

Peach trees of the « Cardinal » cultivar were sprayed in mid-May and mid-June with solutions of gibberellic acid at the respective concentration of 25 mg/l, 50 mg/l and 300 mg/l.

All the June treatments induced a delay of the flower initiation stages in a significant percentage of flower buds. For the May treatments only the concentration of 300 mg/l was effective.

The histological study of flower primordia was completed by flower bud countings in the orchard in next November. These countings have shown that some treatments induced a thinning out effect on the sprayed peach trees.

This work shows that a better thinning effect can be obtained through G.A. sprays of peach trees if the treatment is done in a well defined period when the flower buds of the peach trees are more sensitive. For the related experiment this period took place in mid-June.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

CLANET H., BORSANI O., 1972. Contribution à l'étude de l'action de l'acide gibbérellique sur la croissance des rameaux et l'évolution des bourgeons à fleur du Pêcher : conséquences pratiques. *Ann. Amélior. Plantes*, **22** (1), 61-79.

LEGAVE J. M., 1974. Aspects généraux de l'adaptation aux facteurs climatiques des cultivars des principales espèces fruitières à noyau. *Diplôme d'Agronomie approfondie*, E. N. S. A. Montpellier.

LUCKWILL L. C., 1969. The control of growth and fruit fulness of Apple trees. in *Physiology of tree crop*, p. 273-252. Acad. Press, London and New York.

MONSELISE S. P., 1972. Recent advances in the understanding of flower formation in fruit trees and its hormonal control. *Symposium on growth regulators in fruit production. Acta Hort.*, **34**, (1), p. 157-166.

MONET R., BASTARD Y., 1968. Morphogenèse et croissance des ébauches florales chez le Pêcher. *C. R. Acad. Sci.*, Sér. D, Paris, **266**, 1845-1848.

MONET R., BASTARD Y., 1970. Les mécanismes de la floraison chez le Pêcher. *Bull. techn. Inform.*, **248**, 173-176.

PRINS T., KRUGER H. J. J., 1973. Peach thinning with berelex (communication personnelle).

WILLIAMS M. W., 1972. Chemical control of vegetative growth and flowering of Apple trees. *Symposium on growth regulators in fruit production. Acta Hort*, **34**, (1), 167-184.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (2), 295-304.

OBSERVATIONS PRÉLIMINAIRES CONCERNANT LA BIOLOGIE FLORALE ET LA GÉNÉTIQUE DU BERBERIS : CONSÉQUENCES POUR LA SÉLECTION

A. CADIC et L. DECOURTYE
avec la collaboration technique de Denise MARTIN

Laboratoire d'Amélioration des Arbustes ornementaux, I. N. R. A., 49000 Angers

RÉSUMÉ

Afin d'obtenir de nouveaux cultivars de *Berberis*, présentant à la fois un feuillage rouge et persistant, on a réalisé des hybridations entre espèces à feuillage vert persistant et espèces à feuillage rouge caduc. Des informations préliminaires concernant la biologie florale et le mode de transmission des caractères sont présentées.

Le Berberis est une plante à fécondation entomophile et à autogamie prépondérante. La visite des fleurs par les insectes, essentiellement les bourdons, déclenche un phénomène de thigmonastie qui applique les étamines sur le pistil. La réalisation pratique de croisements contrôlés soulève quelques difficultés.

Différentes observations laissent penser que la présence d'anthocyanes dans les feuilles est contrôlée par un seul gène récessif. Par contre, il faut s'attendre à ce que la transmission du caractère de persistance soit plus complexe.

INTRODUCTION

Le genre *Berberis* est très diversifié. Certaines espèces sont largement utilisées en culture d'ornement. Les unes sont plantées en arbustes isolés, tandis que d'autres constituent des bordures ou des haies de hauteur moyenne. Dans la pratique, deux groupes sont distingués : celui des espèces à feuilles persistantes vertes, et celui des espèces à feuilles caduques, vertes ou rouges. Ce sont les quelques cultivars à feuilles rouges caduques qui sont les plus employés. Toutefois, les professionnels perçoivent une demande potentielle considérable en faveur d'un type, inexistant dans la gamme actuelle, dont le feuillage serait à la fois rouge et persistant. C'est une telle nouveauté que nous nous proposons d'obtenir par hybridation entre les variétés à feuilles persistantes vertes et des variétés à feuilles rouges caduques.

I. — CONNAISSANCE DU GENRE

Les caractères généraux de la famille des Berberidacées s'appuient sur la structure de la fleur et la nature du fruit (BACH, 1964). La fleur (fig. 1) est actinomorphe et complète ; le périanthe est constitué de deux verticilles de 3 sépales et de deux verticilles de 3 pétales nectarifères ; l'androcée comporte 6 étamines poricides, opposées aux pétales, réparties en deux verticilles ; le gynécée est formé d'un seul carpelle uni ou pluriovulé. Le fruit est une baie, la graine est albuminée et l'embryon est droit.

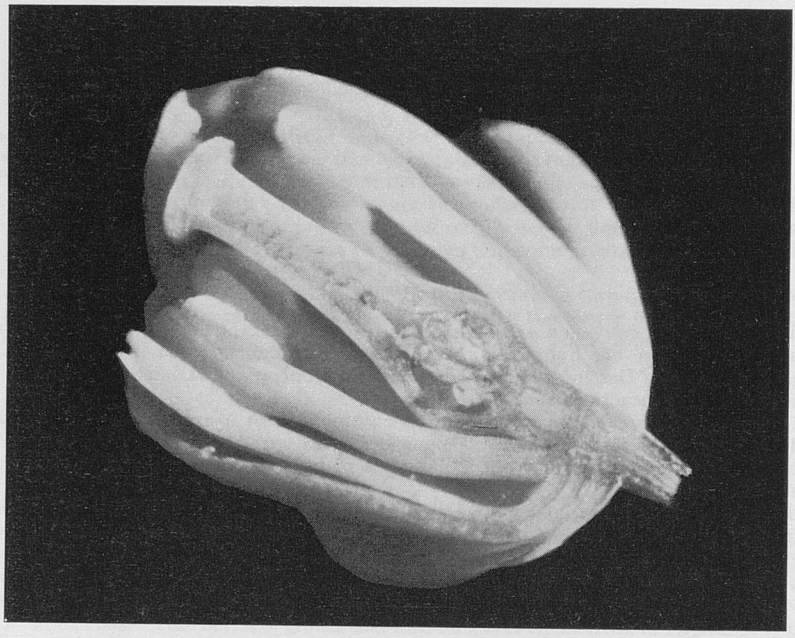


FIG. 1. — *Coupe longitudinale dans un bouton floral de* B. darwinii
Peu de temps avant épanouissement (× 12)

Dans une étude taxonomique détaillée du genre, l'auteur anglais L. W. A. AHRENDT (1961) a décrit près de 500 espèces, variétés ou cultivars. Les principaux critères d'identification sont la nature de l'inflorescence, la longueur du style et le nombre d'ovules, la taille, la forme et la couleur de la baie. L'aspect des feuilles, leur couleur et leur degré de persistance constituent des caractères distinctifs complémentaires.

Dans la pratique, quelques cultivars seulement ont réussi à s'imposer (tabl. 1).

Le programme d'hybridation que nous nous sommes fixés nécessite d'acquérir quelques connaissances sur la biologie florale de ces espèces et la transmission génétique des caractères qui nous intéressent.

TABLEAU I

Espèces et cultivars les plus utilisés

Caractéristiques	Nom des espèces et cultivars
Feuillage vert persistant	*B. candidula*, *B. darwinii* *B. gagnepainii*, *B. x hybridogagnepainii* « Chenault » *B. julianae*, *B. x lologensis* *B. x stenophylla*
Feuillage vert caduc	*B. x media* « Parkjuweel » *B. x rubrostilla* *B. thunbergii*
Feuillage rouge caduc	*B. x ottawensis* cvs « Auricoma », Golden Ring », « Lombarts Purple » « Superba » *B. thunbergii* « Atropurpurea » *B. vulgaris* « Atropurpurea »

II. — BIOLOGIE FLORALE

Une première information concerne les époques de floraison des principaux cultivars susceptibles de constituer des parents. Le tableau 2 résume nos observations à Angers pour l'année 1974.

La lecture de ce tableau montre que certaines espèces présentent une seconde floraison en arrière-saison, moins abondante que la floraison de printemps. Cette floraison remontante a un intérêt décoratif, mais elle n'aboutit pas à la formation de fruits. En plein air, elle n'est donc pas utilisable par le sélectionneur. Quelques espèces à feuilles persistantes (*gagnepainii*, *x hybrido-gagnepainii*, « Chenault », *x stenophylla*) manifestent une concordance satisfaisante avec la floraison des géniteurs à feuillage rouge. D'autres, par contre, sont nettement plus précoces (*julianae*, *x lologensis*) ou plus tardifs (*wilsonae*). Les croisements entre espèces à floraison décalée nécessiteront la mise au point d'une technique de conservation du pollen, ou bien la culture de certains parents en conditions contrôlées afin d'avancer ou de retarder leur végétation. La réalisation d'hybridations en serre permettrait en outre d'échapper aux conditions climatiques souvent peu favorables des mois de mars et d'avril.

Dans les conditions naturelles, les fleurs de *Berberis* sont à fécondation entomophile et à autogamie dominante. La visite des fleurs par des insectes assez gros (en général des bourdons) entraîne un mouvement brusque des étamines vers le stigmate. Ce phénomène de thigmonastie mentionné par CHAMPAGNAT *et al.* (1969) peut être déclenché plusieurs fois au cours de la vie d'une fleur. Toutefois il n'est efficace, au point de vue de la fécondation, que lorsque les sacs polliniques sont

TABLEAU 2

Époque de floraison de quelques espèces à Angers en 1974

NOM et CARACTERISTIQUES	ECHELLE CALENDAIRE										
	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
1. Feuillage vert											
B. darwinii	■	■	■					■	■		
B. gagnepainii			■	■							
B. hybridogagnepainii "Chenault"			■	■							
B. julianae		■	■								
B. x lologensis "Highdown"	■	■	■						■	■	■
B. x media "Parkjuwel"			■	■							
B. x stenophylla			■	■					■	■	■
B. thunbergii			■	■							
B. wilsonae					■	■	■				
2. Feuillage rouge											
B. x ottawensis "Auricoma"			■	■							
B. thunbergii "Atropurpurea"			■	■							
B. vulgaris "Atropurpurea"			■	■							

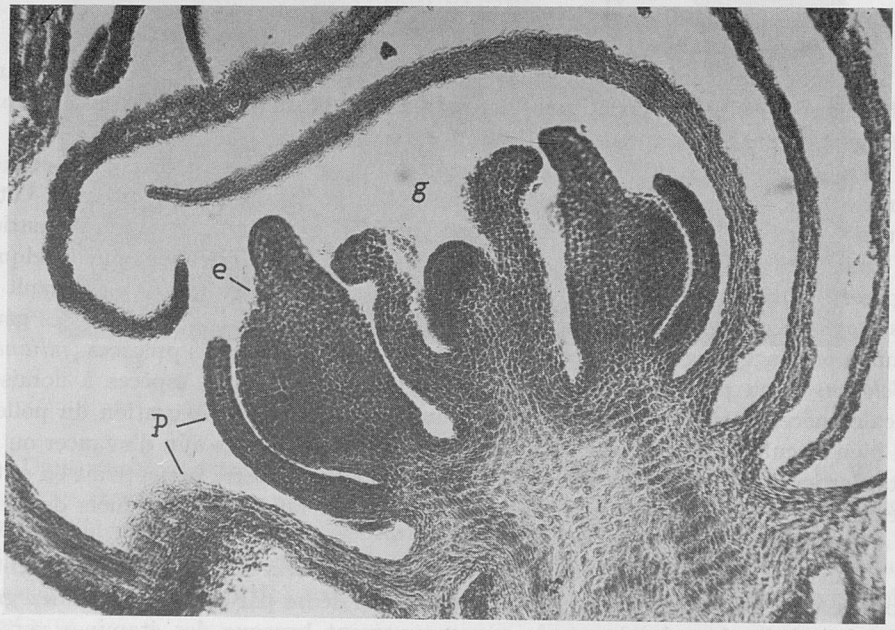


FIG. 2. — *Coupe dans un bouton floral de* B. julianae *avant la floraison*

e : ébauche d'étamines
g : ébauche de gynécée
p : ébauche des pétales en deux verticilles

aptes à libérer le pollen. Cette libération s'effectue par l'ouverture de deux opercules dont la face interne est tapissée d'une faible quantité de pollen. Ce dernier se trouve ainsi appliqué sur la bordure externe du plateau stigmatique recouvert d'une substance visqueuse qui le retient. Le style relativement court est creux, au moins dans la jeune fleur, de telle sorte que la cavité ovarienne se trouve en relation avec le milieu extérieur. L'ontogenèse de la fleur explique l'existence de ce canal. La figure 2 montre que le gynécée se constitue à partir d'une urne dont le fond portera les ovules et dont les parois en se rapprochant formeront le style et le stigmate.

L'importance des insectes dans la pollinisation a été montrée en isolant sous des cages à mailles fines quelques buissons des espèces suivantes :

> *B. koreana*, *B. x ottawensis* cvs. « Auricoma », « Golden Ring », « Lombart's Purple », « Superba ». *B. thunbergii* « Atropurpurea » et *B. vulgaris* « Atropurpurea ».

Aucune fructification n'a été obtenue dans de telles conditions alors qu'un déclenchement manuel assure une fécondation normale.

La thigmonastie contraint le sélectionneur à effectuer une castration à un stade suffisamment précoce pour éviter une autofécondation accidentelle. A moins d'utiliser d'autres procédés (par exemple, l'application d'un gamétocide mâle) qui pourraient en outre avoir l'avantage d'éviter les blessures importantes que provoque l'ablation des étamines, la castration est indispensable : il ne semble pas possible de polliniser tardivement sans provoquer le déclenchement des étamines.

Le mécanisme décrit favorise l'autogamie. Dans la pratique, certaines espèces, *B. darwinii*, *B. gagnepainii* et *B. hookeri* ainsi que les variétés à feuilles rouges de *B. thunbergii* et *B. vulgaris* sont souvent multipliées par semis. Toutefois, la plupart des cultivars sont hétérozygotes et ne peuvent être reproduits fidèlement que par voie végétative.

III. — CONNAISSANCE GÉNÉTIQUE

La bibliographie n'apporte que peu d'informations. A notre connaissance, aucune étude génétique n'a été effectuée jusqu'à ce jour. Depuis le siècle dernier cependant, des amateurs ou des pépiniéristes ont sélectionné la plupart des cultivars dans des semis de fécondation libre.

A. — *Nombre chromosomique et niveau de ploïdie*

Des résultats anciens et quelquefois contradictoires obtenus par Tischler (1928), Dermen (1931), Giffen (1936) et repris par Darlington et Ammal (1945) donnent 28 pour nombre chromosomique habituel. Seul *B. turcomanica* var. *integerrima* possède 56 chromosomes. Tischler et Giffen ne sont pas en accord sur le nombre chromosomique de *B. buxifolia* et proposent respectivement 56 et 28.

Aucun de ces auteurs ne donne de façon certaine le niveau de ploïdie.

Par comptage sur des écrasements de pointes de racines, nous avons vérifié

le nombre chromosomique d'une trentaine de clones de notre collection. La plupart sont effectivement à $2n = 28$ à l'exception de *B. x antoniana* et des cvs. « Nana » et « Pygmaea » de *B. buxifolia* à 56 chromosomes (tabl. 3).

TABLEAU 3

Nombre chromosomique somatique

	Nombre de chromosomes
B. aggregata	28
B. x antoniana	56
B. atrocarpa	28
B. buxifolia « Nana »	56
B. buxifolia « Pygmaea »	56
B. candidula	28
B. candidula « Amstelveen »	—
B. candidula « Halboom »	—
B. coxii	—
B. gagnepainii	—
B. gagnepainii « Robin Hood »	—
B. hookeri var. *purpurea*	—
B. koreana	—
B. x mentorensis	—
B. x ottawensis « Auricoma »	—
B. x ottawensis « Golden Ring »	—
B. x ottawensis « Lombart's Purple »	—
B. polyantha	—
B. x rubrostilla	—
B. ruscifolia	—
B. x stenophylla « Autumnalis »	—
B. x stenophylla « Gracilis »	—
B. x stenophylla « Irwinii »	—
B. thunbergii	—
B. thunbergii « Atropurpurea Nana »	—
B. veitchii	—
B. verruculosa	—
B. wilsonae	—
B. wilsonae var. *subcaulialata*	—

Le comportement méiotique d'une espèce à 28 chromosomes, *B. darwinii*, a pu être observé. Il montre clairement une association de 14 paires de chromosomes, sans appariements secondaires, traduisant ainsi une structure diploïde typique (fig. 3).

FIG. 3. ci-contre — *Méiose de* B. darwinii

a : métaphase I
b : fin de métaphase
c : télophase

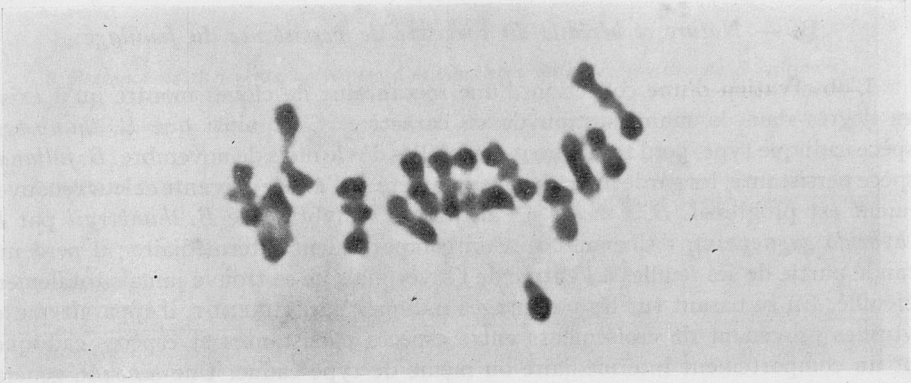


FIG. 3 a

FIG. 3 b

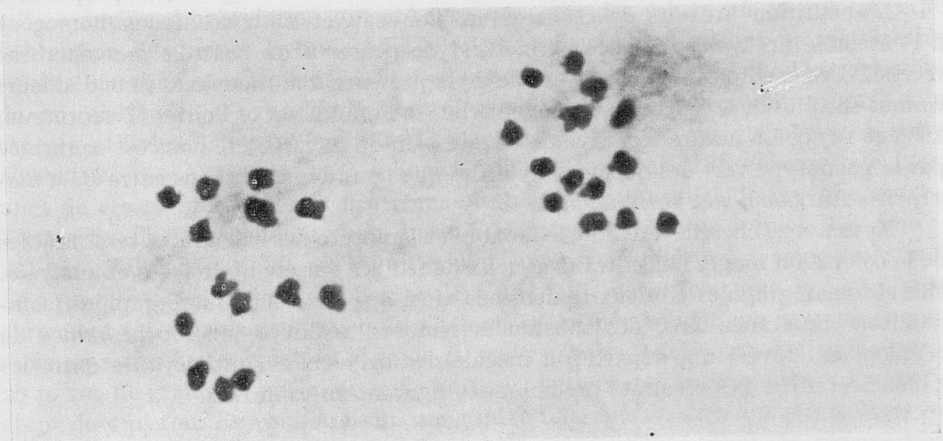


FIG. 3. c

B. — *Nature et hérédité du caractère de persistance du feuillage*

L'observation d'une collection d'une soixantaine de clones montre qu'il existe des degrés dans la manifestation de ce caractère. C'est ainsi que *B. thunbergii*, espèce caduque type, perd totalement ses feuilles dès le mois de novembre. *B. julianae*, espèce persistante, les garde au moins jusqu'à l'été de l'année suivante et leur renouvellement est progressif. *B. x media* « Parkjuweel » (hybride de *B. thunbergii* par *B. x hybrido gagnepainii* « Chenault ») a un comportement intermédiaire ; il perd une grande partie de ses feuilles à l'entrée de l'hiver mais ne se trouve jamais totalement défeuillé. En se basant sur les parentages indiqués par AHRENDT, il apparaît que les hybrides provenant de croisements entre espèces persistantes et espèces caduques ont un comportement intermédiaire ou même de type caduc. Une seconde génération au moins sera probablement nécessaire pour retrouver un niveau de persistance acceptable.

C. — *Hérédité et nature du caractère « feuillage rouge »*

L'origine des formes à feuillage rouge est relativement récente et l'histoire est bien connue (SCHNEIDER, 1923) : BERTIN à Versailles, en 1840, découvre dans un semis de *B. vulgaris* un plant caractérisé par la couleur pourpre de ses feuilles et le multiplie. Un peu plus tard, sans doute vers 1880, le Dr. SAUNDERS à Ottawa utilise ce cultivar dans un croisement avec *B. thunbergii*. Il obtient des plants à feuillage vert dont SCHNEIDER reçoit quelques exemplaires en 1917. Nous supposons que les cultivars à feuillages pourpres tels que *B. x ottawensis* « Superba », « Auricoma » et « Lombarts purple » sont des descendants de cet hybride.

Par ailleurs, un pépiniériste d'Orléans, Léon RENAULT découvre, vers 1913, un individu à feuilles rouges dans un semis de *B. thunbergii* issu de fécondation libre. Les graines récoltées sur cette plante reproduisent d'emblée une descendance homogène à feuillage rouge. Proposée au commerce en 1923, cette nouveauté se répandait mondialement sous l'appellation de *Berberis thunbergii* « Atropurpurea ».

L'apparition brusque de ce caractère nouveau et sa transmission homogène à l'ensemble de la descendance permettent de penser à un contrôle monofactoriel récessif. Des exemples d'hérédité simple de la présence d'anthocyanes sont d'ailleurs connus sur plusieurs espèces, notamment chez le Pommier et le Poirier (DECOURTYE, 1968 et 1973). La nature récessive de l'expression de ce caractère nous est confirmée par le phénotype vert des quelques hybrides que nous avons obtenus entre *B. x ottawensis* « Auricoma » et *B. julianae*.

Nous avons cherché à définir le nombre et la nature des substances responsables de la coloration rouge. Des extraits aqueux de feuilles ont été hydrolysés et analysés. Des chromatographies en deux dimensions ainsi que des cochromatographies (comparaison simultanée avec des substances témoins) réalisées sur couche mince de cellulose ont révélé une répartition inégale des aglycones d'anthocyanes entre les 3 clones étudiés. Les résultats préliminaires figurent au tableau 4.

TABLEAU 4

Présence de différents aglycones d'anthocyanes dans les feuilles de 3 cultivars

Cultivars	Aglycone					
	cyanidine	paeonidine	malvidine	petunidine	delphinidine	pelargonidine
B. thunbergii « Atropurpurea »	++	0	0	0	0	0
B. vulgaris « Atropurpurea »	++	++	+	0	0	0
B. x ottawensis « Lombart's purple »	++	++	+	+	+	0

++ : forte concentration
\+ : faible concentration
0 : absence

Solvants : 1re dimension : acide formique, HCl, H_2O (50-5-15) (Nybom, 1964)
2e dimension : alcool amylique, acide acétique, H_2O (2-1-1) (Van Bragt *et al.*, 1966).

CONCLUSION

L'objectif que nous nous sommes proposés paraît compatible avec les méthodes traditionnelles de l'Amélioration des Plantes. Nous savons maintenant que la sélection pour les caractères que nous recherchons ne pourra s'effectuer qu'à partir de la génération F_2. Nous aurons la chance de pouvoir alors multiplier végétativement tout individu qui réunirait les caractéristiques souhaitées. Pourtant nos deux premières années d'hybridation ont été marquées par des échecs en ce qui concerne l'obtention de graines hybrides. La plupart des croisements sont en effet restés stériles, sans que nous puissions actuellement attribuer ces échecs soit à l'imperfection de nos méthodes d'hybridation contrôlée, soit à des interstérilités propres aux espèces utilisées. Un petit nombre de plantes hybrides F_1 ont été obtenues entre *B. x ottawensis* « Auricoma » et *B. julianae*. Après 18 mois de culture en serre, quelques-unes de ces plantes ont déjà fleuri, manifestant ainsi une période juvénile courte. Toutes ces fleurs cependant sont, jusqu'à maintenant, restées stériles. Des observations effectuées sur 3 de ces hybrides nous ont permis de constater que seulement 40 à 50 p. 100 des grains de pollen avaient une taille normale et que 20 à 25 p. 100 germaient convenablement sur milieu gélosé. De la même façon, un hybride obtenu dans un semis de fécondation libre de *B. x ottawensis* « Auricoma » n'a produit que 20 p. 100 de grains de pollen de taille normale, le taux de germination approximatif étant de 5 p. 100. En comparaison, une espèce telle que *B. darwinii* placée dans les mêmes conditions contient environ 97 p. 100 de pollen normal, la germination s'effectuant à 80 p. 100.

DERMEN (1931) a réalisé des croisements entre différentes espèces de *Berberis* et obtenu quelques résultats (*B. heteropoda* × *B. julianae*, *B. notabilis* × *B. thunbergii*). D'autres croisements ont échoué.

Il paraît probable qu'un certain nombre d'obstacles d'ordre interne puissent s'opposer à la réalisation facile des hybridations projetées. Nous allons chercher à mieux définir leur mode d'action pour tenter de les surmonter.

Reçu pour publication en mars 1975.

REMERCIEMENTS

Nous remercions nos collègues M. DURON (I. N. R. A., Angers) et M. PAYNOT (I. N. R. A., Dijon) pour leur contribution à l'identification des anthocyanes foliaires.

SUMMARY

PRELIMINARY RESULTS ON FLORAL BIOLOGY AND GENETICS OF BARBERRY : BREEDING CONSEQUENCES

Crosse between evergreen barberries and red deciduous ones have been attempted in order to produce new types characterized by a red persistent foliage.

Some preliminary informations are given on floral biology and genetics which need to be developed.

Permanent red colour seems to be induced by a monofactorial recessive gene ; heredity of persistence is unknown.

Barberries are highly autogamous. Difficulties occur in the practical realization of crosses.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AHRENDT L. W. A., 1961. Berberis and Mahonias. A taxonomic revision. *J. Linnean Soc. London Botany*, **57** (369), 410 p.

BACH D., MASCRE M., DEYSSON G., 1964. *Cours de Botanique générale.* Tome II, Deuxième partie par G. DEYSSON. *Organisation et classification des plantes vasculaires. Systématique.* Société d'Édition et d'Enseignement supérieur, Paris, 237-238.

CHAMPAGNAT P., OZENDA P., BAILLAUD L., 1969. *Biologie végétale. Croissance, Morphogenèse, Reproduction.* Tome III, Masson et Cie, Paris, 292-294.

DARLINGTON C. D., JANAKI AMMAL E. K., 1945. Chromosome Atlas of Cultivated Plants. George Allen and Unwin LTD, London, p. 64.

DECOURTYE L., 1967. Étude de quelques caractères à contrôle génétique simple chez le Pommier (*Malus* sp.) et le Poirier (*Pyrus communis*). *Ann. Amélior. Plantes*, **17** (3), 243-265.

DECOURTYE L., 1973. Hérédité de quelques caractères marqueurs et possibilités offertes par la mutagenèse. Compte rendu du Symposium *Culture du Poirier* I.S.H.S., Angers, 4-8 septembre 1972, 93-100.

DERMEN H., 1931. A study of chromosome number in two genera of Berberidaceae : Mahonia and Berberis. *J. Arnold Arboretum*, **12**, 281-287.

GIFFEN M. H., 1936. The chromosome numbers of *Berberis*. *Trans. Royal Soc. South Africa*, 203-206.

NYBOM N., 1964. Thin layer chromatographic analysis of Anthocyanidins. *Physiol. Plant.*, **17**, 157-164.

SCHNEIDER C., 1923. Notes on hybrid *Berberis* and some other garden forms. *J. Arnold Arboretum*, **4** (4), 193-232.

TISCHLER G., 1928. Über die Verwendung der Chromosomenzahl für phylogenetische Probleme bei den Angiospermen. *Biol. Zentralblatt*, **48** (6), 321-345.

VAN BRAGT J., GERARDS E. M. S., LEGRO R. A. H., 1966. Dunne-laag chromatografic, toegepast bij het onderzoek van bloemkleurstoffen. *Meded. Dir. Tuinb.*, **29**, 97-99.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (2), 305-318.

PRODUCTION DE TÉTRAPLOÏDES ET DE TRISOMIQUES NATURELS CHEZ LE PÉTUNIA

D. MAIZONNIER
avec la collaboration technique d'Annie MOESSNER

Station d'Amélioration des Plantes,
Centre de Recherches de Dijon, I. N. R. A.,
B.V. 1540, 21034 Dijon Cedex

RÉSUMÉ

La sélection en consanguinité de plantes de Pétunia produisant, outre du pollen normal, des spores diploïdes, tétraploïdes et aneuploïdes a permis d'obtenir des individus tétraploïdes et trisomiques naturels avec des fréquences non négligeables : 25 p. 100 de $4x$ en F_5 et jusqu'à 7 p. 100 de $2x + 1$ dans certaines générations.

L'apparition de ces mutants numériques est due à un dérèglement de la méiose (perturbation du fonctionnement du fuseau et asynapsis partielle) apparemment contrôlé par un facteur génétique récessif.

L'intérêt théorique et la portée pratique de la connaissance et de l'utilisation de tels systèmes sont discutés.

INTRODUCTION

La pollinisation d'une plante diploïde avec le pollen d'une plante haploïde ($n = x = 7$) a fourni dans sa descendance un individu présentant la particularité de produire un certain nombre de grains de pollen d'une taille anormalement élevée. Lorsque l'on sait (CORNU et MAIZONNIER, 1970 ; MAIZONNIER, 1974) que les plantes haploïdes de Pétunia sont susceptibles d'une part de substituer à leur méiose une mitose produisant deux gamétophytes à sept chromosomes et d'autre part de donner naissance à des noyaux de restitution possédant un stock chromosomique doublé, il a paru intéressant :

— d'analyser les phénomènes cytologiques pouvant conduire à la formation de ce pollen,

— de connaître les effets d'une sélection pour ce caractère sur l'augmentation de sa fréquence et d'analyser son déterminisme génétique,
— de savoir si ce caractère est lié à la production de polyploïdes naturels ou d'autres mutants numériques.

La présente note fait état des résultats de cette étude.

De très nombreuses espèces sont probablement susceptibles de produire au cours de leurs méioses quelques noyaux de restitution aboutissant à des gamètes non réduits. Mais ce phénomène semble se rencontrer plus fréquemment chez les hybrides interspécifiques ou chez les polyploïdes (DARLINGTON, 1965). C'est ainsi, par exemple, que WALTERS (1958) décrit de tels noyaux de restitution chez des hybrides dans le genre *Bromus* ; leur formation correspond à un mauvais fonctionnement de l'appareil fusorial et à un déplacement anormal des chromosomes au cours de l'anaphase I : après un début de migration vers les pôles, les chromosomes regagnent le centre de la cellule.

Pour WAGENAAR (1968), la formation de noyaux de restitution chez des hybrides entre *Triticum crassum* et *Triticum turgidum* est liée à une certaine asyndèse, à une augmentation de la durée de la métaphase I et à un taux élevé de chromosomes retardataires à l'anaphase I.

Chez les polyploïdes naturels, BRINGHURST et GILL (1970) et BRINGHURST et BARRIENTOS (1972) ont montré l'importance des gamètes non réduits et « deux fois non réduits », — c'est-à-dire doublés, — dans l'évolution du genre *Fragaria*. Par ailleurs, BINGHAM (1970 et 1972) a pu constituer expérimentalement une série polyploïde allant de $2x$ à $7x$ en utilisant la propriété que possède *Medicago sativa* de produire des gamètes non réduits fonctionnels. Nos propres travaux sur *Trifolium pratense* (MAIZONNIER et PICARD, 1970) nous ont permis de dénombrer des plantes $6x$ et $8x$ dans des populations autotétraploïdes artificielles. L'apparition de telles plantes ne peut guère s'expliquer que par le fonctionnement de gamètes non réduits produits par des restitutions en méiose.

SNYDER (1960) a cependant décrit des phénomènes de non réduction au cours de la méiose asyndétique de *Paspalum secans*, espèce apomictique obligatoire.

En ce qui concerne le Pétunia, dès 1927, MATSUDA a remarqué la présence de « pollen géant » chez certains individus de *Petunia hybrida* et *Petunia axillaris*. En 1930, cet auteur a expliqué la présence de ce pollen géant par des fusions de microspores provoquées par des élévations de température mais, malgré l'utilisation sélective de ce pollen géant en autofécondation, il n'a pas obtenu de descendance polyploïde dans ses expériences rapportées en 1934. MATSUDA (1934) a mis en évidence un autre type de pollen qu'il qualifie de « super géant » et qui proviendrait de la fusion de microspores issues de différentes cellules mères de pollen.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Généalogie du matériel végétal utilisé

La plante de départ de cette étude (FB-100) a été remarquée dans la descendance F_1 d'une plante de la lignée RL 11 pollinisée par la plante haploïde BM 7-37 pour son aptitude à produire une certaine proportion de pollen d'une taille anormalement élevée. Un contrôle cytologique a confirmé

le niveau diploïde de cette plante. Pour différentes raisons (voir plus loin) nous avons décidé d'appeler ce pollen de grande taille « megapollen », ce terme ne présumant pas de son mode de formation.

Quatre générations de sélection en autofécondation ont été effectuées : le passage d'une génération à la suivante se faisant en autofécondant la (ou les) plante(s) produisant la plus forte proportion de megapollen, comme le montrent les deux premières colonnes du tableau 1. Pour l'analyse

TABLEAU I

Évolution des pourcentages de megapollen au cours des cinq générations, le passage d'une génération à la suivante se fait en autofécondant la (ou les) *plante* (s) *présentant le plus fort pourcentage de megapollen*

		Pourcentage de pollen normal	Pourcentage de megapollen par rapport au pollen total	Pourcentage de megapollen par rapport au pollen normal
F_1	FB-100 (Comptage sur 10 fleurs)	**74,0**	**2,0**	**3,0**
F_2	Descendance autofécondée de : FB-100 (114 plantes)	**46,0**	**3,0**	**9,5**
	dont : FB-100-29 (2*x*)	15,8	13,5	85,7
F_3	Descendance autofécondée de : FB-100-29 (72 plantes)	**47,0**	**11,0**	**25,0**
	dont : FB-100-29-46 (2*x*)	25,2	23,3	92,5
	FB-100-29-69 (2*x*)	33,0	28,0	85,0
	FB-100-29-33 (4*x*)	14,1	13,8	97,7
F_4	Descendance autofécondée de : FB-100-29-46 (61 plantes 2*x*)	**21,8**	**11,6**	**56,1**
	dont : FB-100-29-46-19 (2*x*)	26,0	23,5	90,4
F_5	Descendance autofécondée de : FB-100-29-46-19 (15 plantes 2*x*)	**17,8**	**8,6**	**58,5**
	dont : FB-100-29-46-19-1 (2*x*)	11,6	11,6	100
	FB-100-29-46-19-4 (2*x*)	20,3	20,3	100

génétique de ce caractère, nous avons choisi comme parent normal une lignée (TB 1-3) présentant, outre une bonne fertilité pollinique, un pollen de type haploïde d'une taille remarquablement homogène. Cette lignée nous a permis de constituer une descendance hybride avec une plante F_4 produisant du megapollen et de pratiquer les rétrocroisements nécessaires à l'analyse génétique de ce caractère.

Le niveau de ploïdie, la fertilité pollinique et le pourcentage de megapollen ont été établis pour toutes les plantes de chaque génération.

Méthodes d'étude

Les techniques cytologiques utilisées pour les comptages chromosomiques sur méristèmes radiculaires et les examens de méioses ont été décrites par ailleurs (MAIZONNIER, 1971 ; MAIZONNIER et CORNU, 1971).

Les fertilités polliniques ont été déterminées à l'aide de la coloration mise au point par ALEXANDER (1969). Pour chaque plante, la fertilité pollinique a été jugée sur la première fleur produite sauf pour la plante FB-100 et dans les cas de stérilité mâle de la première fleur. Un minimum de 300 grains de pollen a été examiné dans trois régions différentes mais déterminées des préparations afin de limiter l'effet d'éventuels gradients de répartition du pollen en fonction de sa taille au moment de la réalisation de la préparation (fig. 1).

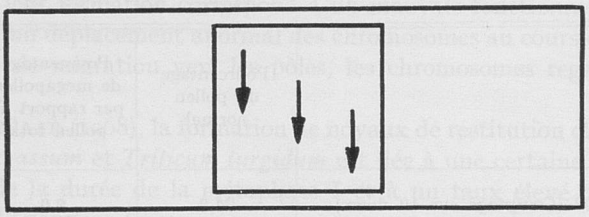


FIG. 1. — *Le pollen est examiné entre lame et lamelle dans trois régions de la préparation comme l'indiquent les flèches*

Les grains de pollen ont été mesurés à l'aide d'un micromètre oculaire. Pour simplifier, les résultats sont exprimés en unités micrométriques. Une unité micrométrique correspond à 3,2 microns.

Dans l'exposé, l'expression « pollen normal » s'applique aux grains de pollen ayant un contenu normalement coloré (rouge violacé) quelle que soit leur taille.

RÉSULTATS

I. — *Observations du pollen et de la méiose des plantes produisant du mégapollen*

1. *Le pollen.*

Les mensurations de pollen pratiquées sur différentes lignées diploïdes normales et sur les plantes hybrides, sœurs de la plante FB-100, nous ont permis de constater que le pollen haploïde normal (fig. 2) mesure en moyenne une trentaine de microns et ne dépasse guère 40 microns comme le montre le diagramme de la figure 3. Nous avons donc considéré comme megapollen, et mesuré tout grain de pollen normalement coloré dont le plus grand diamètre était égal ou supérieur à 13 unités micrométriques soit environ 40 microns. A la suite de l'observation du pollen de lignées d'origines très diverses, nous avons remarqué qu'un grand nombre de plantes produisait quelques grains de pollen de grande taille mais avec une faible fréquence. Nous avons alors considéré comme normale toute plante produisant moins de 2 p. 100 de megapollen par rapport au pollen normal tel que nous le définissons ci-dessus.

La figure 4 montre un exemple de population de pollen observée au cours de cette étude : les grains de pollen peu colorés et de petite taille sont avortés ; parmi

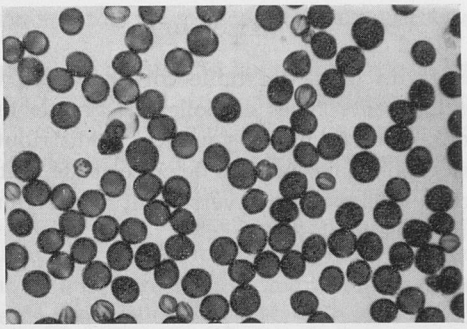


FIG. 2. — *Le pollen d'une plante diploïde normale de Pétunia* (250 ×)

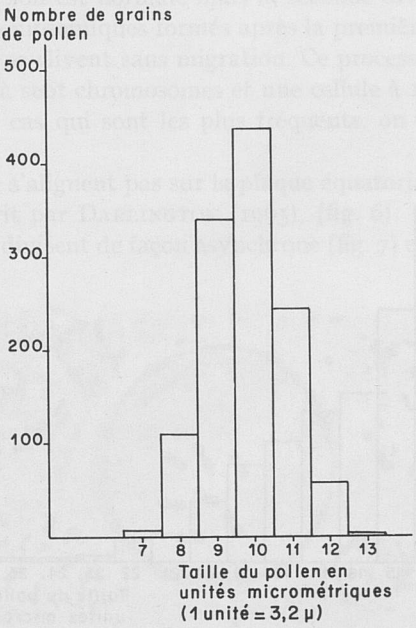


FIG. 3. — *Distribution de la taille des grains de pollen produits par deux lignées présentant une microsporogenèse normale*

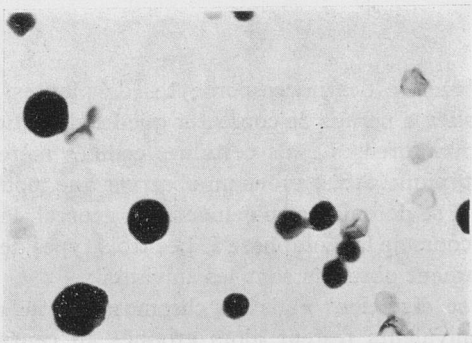


FIG. 4. — *Différents types de grains de pollen observés chez une plante produisant une forte proportion de megapollen* (250 ×)

les grains colorés, les grains de petite taille correspondent vraisemblablement au pollen haploïde et les différents types de pollen de grande taille correspondent au megapollen. Le diagramme de la figure 5 montre la distribution de fréquence des différentes tailles de megapollen mesuré lors de cette étude, soit au total 5 706 grains. Le pourcentage de chaque classe est inversement proportionnel à sa taille et la distribution ne présente pas de classe modale.

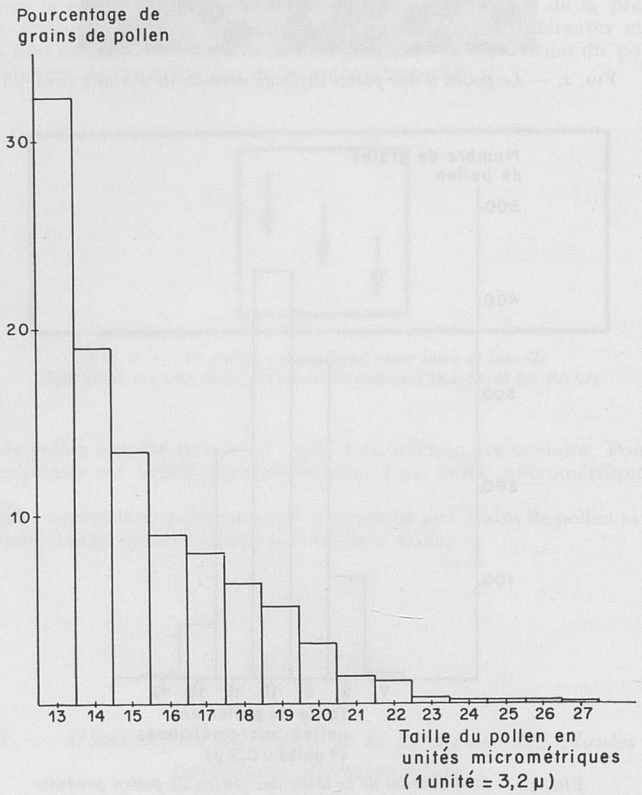


FIG. 5. — *Distribution de la taille des grains de pollen ⩾ 13 unités micrométriques, mesurés dans l'ensemble de cette étude*

2. *La méiose.*

L'examen de la méiose des microsporocytes de plantes présentant une forte proportion de megapollen a permis de constater que les déviations par rapport à une méiose normale sont nombreuses mais certaines cellules mères ont cependant une méiose parfaitement typique. Nous avons pu observer que, pour autant qu'on puisse en juger, la prophase I se déroule normalement. En général, les anomalies commencent à se produire au cours de la métaphase I. Les trois types de comportement méiotique les plus couramment observés sont les suivants :

a) les bivalents se dissocient mais les chromosomes ne migrent pas vers des pôles opposés ; les univalents restent alors groupés au centre de la cellule et se clivent sans déplacement important des chromatides sœurs, de telle sorte qu'un seul

noyau tétraploïde ou monade se constitue à la fin de la méiose. Un tel système aboutit à des gamètes doublés par rapport au stock chromosomique somatique. Ces gamètes doublés correspondent probablement aux grains de pollen « super géants » dont MATSUDA faisait état chez le Pétunia et aux gamètes « deux fois non réduits » décrits par BRINGHURST et ses collaborateurs dans le genre *Fragaria*.

b) Les bivalents s'alignent sur la plaque équatoriale en métaphase I et se divisent normalement en anaphase I. Il se forme alors deux noyaux de télophase I. Les chromosomes se clivent en anaphase II sans migration. Il apparaît alors une membrane isolant une diade de deux cellules diploïdes. Ce sont là les véritables « gamètes non réduits » qui portent le même nombre chromosomique que le parent qui leur a donné naissance.

c) La première division est normale mais la seconde division n'est typique que pour un des groupes chromosomiques formés après la première division ; les chromosomes de l'autre groupe se clivent sans migration. Ce processus aboutit à une triade contenant deux cellules à sept chromosomes et une cellule à 14 chromosomes.

A côté de ces trois cas qui sont les plus fréquents, on a pu observer d'autres anomalies :

— Les bivalents ne s'alignent pas sur la plaque équatoriale : c'est le phénomène de non congression décrit par DARLINGTON (1965), (fig. 6).

— Les bivalents se divisent de façon asynchrone (fig. 7) et les deux chromosomes

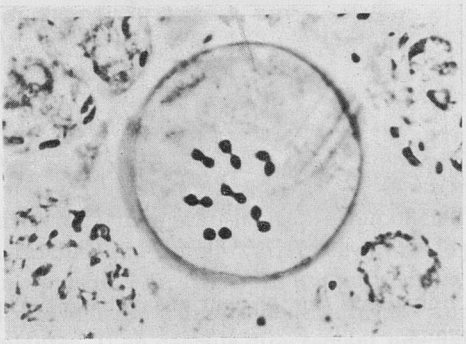


FIG. 6. — *Non congression des bivalents* (2 500 ×)

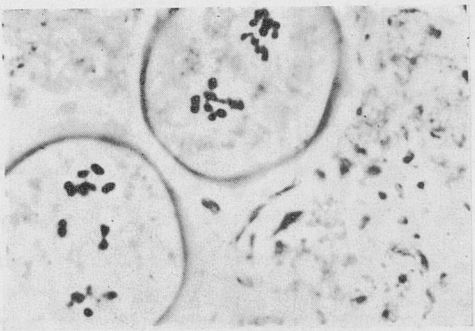


FIG. 7. — *Deux bivalents se divisent tardivement dans la cellule de gauche* (2 500 ×)

constitutifs peuvent être englobés dans le même noyau (fig. 8). Il se produit alors, si la deuxième division a lieu normalement, des gamètes hypoploïdes et des gamètes hyperploïdes.

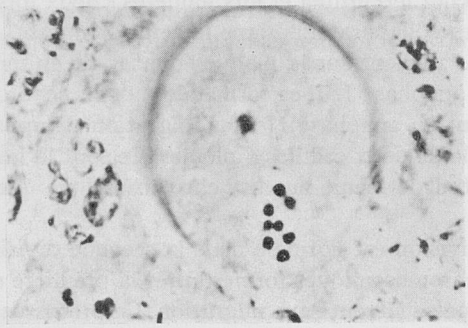


FIG. 8. — *La non disjonction d'un bivalent en AI produit des noyaux aneuploïdes*
Sur cette photo, seul le groupe de 8 chromosomes est visible, le groupe de 6 chromosomes se trouvant dans un autre plan (2 500 ×)

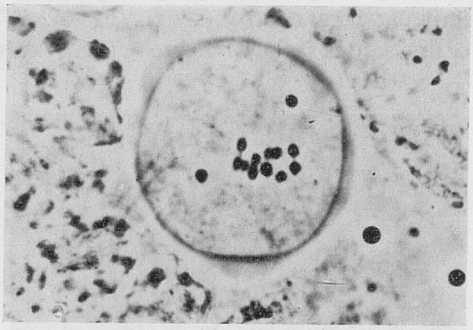


FIG. 9. — *Présence d'univalents* (2 500 ×)

— La présence d'univalents (fig. 9) peut aussi être à l'origine de gamètes aneuploïdes ou de micronoyaux.

— Dans certains cas, la disposition des chromosomes pendant la métaphase I (fig. 10) laisse supposer qu'il existerait un certain degré d'asyndèse à moins qu'il ne

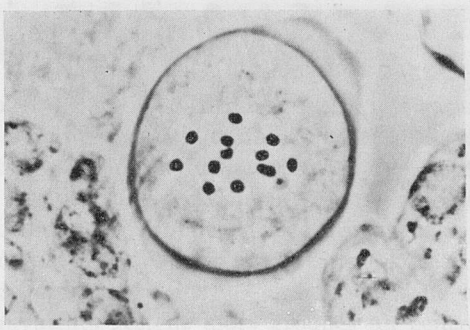


FIG. 10. — *Asyndèse des chromosomes ou mauvais fonctionnement du fuseau* (2 500 ×)

s'agisse d'un défaut de migration des chromosomes dû à un mauvais fonctionnement du fuseau.

— Enfin, dans d'autres cas, il semble que les chromosomes se répartissent en groupes plus ou moins inégaux sans être guidés par une mécanique fusoriale stricte de telle sorte qu'il se produit des noyaux télophasiques ayant des tailles, — reflets du contenu chromosomique, — très variables, (fig. 11).

FIG. 11. — *La cellule de droite montre deux noyaux télophasiques inégaux issus d'anomalies de répartition des chromosomes*

La cellule de gauche contient un seul noyau de restitution ou monade (2 500 ×)

Il résulte de ce comportement méiotique très perturbé qu'à côté d'un certain nombre de gamètes euploïdes (x, $2x$ et $4x$) il se forme une quantité non négligeable de grains de pollen contenant un nombre chromosomique aneuploïde variable dont seuls certains doivent être viables. Il n'est donc pas surprenant d'observer, d'une part, que la fertilité pollinique de ces plantes est faible et, d'autre part, que la distribution de fréquence des tailles du megapollen ne présente pas de classe modale comme on pourrait l'attendre s'il ne se formait que du pollen x, $2x$ et $4x$. Ce comportement méiotique générateur d'une grande variété de grains de pollen justifie l'emploi du terme « megapollen » puisqu'il ne s'agit pas uniquement de non réduction.

On a pu observer que le degré d'anomalie de la méiose augmente avec le niveau de consanguinité des plantes. Il en découle directement une diminution de la fertilité pollinique.

Les fréquences relatives des différents types d'anomalies sont variables d'une fleur à l'autre chez un même individu et, dans de telles conditions, il nous a paru inutile d'essayer de traduire en termes de fréquences les différentes anomalies observées.

II. — *Évolution de la fréquence du megapollen au cours des générations et analyse génétique des phénomènes observés*

1. *Évolution de la fréquence du megapollen au cours des générations.*

Le tableau 1 montre l'évolution de la fréquence du megapollen au cours de quatre générations obtenues en autofécondant à chaque génération (à partir de la F_2) la (ou les) plante (s) ayant produit la plus forte proportion de megapollen.

L'examen des données du tableau 1 (colonne de droite) permet de constater que

la fréquence du caractère présence de megapollen est sensible à la sélection puisque nous assistons à une augmentation graduelle au cours de quatre générations d'autofécondation pour parvenir en F_5 à deux cas individuels où la totalité du pollen normal, tel que nous l'avons défini ci-dessus, est du megapollen. Ce caractère est donc vraisemblablement conditionné par un système génétique.

Il est aussi remarquable (tableau 1, colonne de gauche) que la fertilité pollinique totale décroît très fortement au cours de quatre générations d'autofécondation. Cette baisse de fertilité pollinique est très certainement liée à une augmentation de la fréquence des anomalies méiotiques conduisant à une plus forte proportion de megapollen mais aussi à un plus grand nombre de grains de pollen trop déséquilibrés qui avortent.

2. *Analyse génétique du déterminisme de ce caractère.*

Deux séries d'hybridations ont été réalisées dans ce but :

a) La plante de quatrième génération FB 100-29-46-19 a été utilisée comme femelle et comme mâle dans un croisement avec une plante d'une lignée (TB 1-3) ne produisant pas de megapollen. La génération hybride 19 × TB 1-3 (croisements direct et réciproque) ne contenait que des plantes à pollen normal, de type haploïde. Aucun effet maternel n'a été mis en évidence. La fertilité pollinique moyenne de cette génération (55 p. 100) se situe à un niveau sub-normal.

b) La plante 70 de la descendance 19 × TB 1-3 a été croisée en retour d'une part avec la lignée TB 1-3 et d'autre part avec la plante 19.

— Pour 100 plantes analysées, le croisement (19 × TB 1-3) 70 × TB 1-3 n'a donné que des plantes produisant du pollen de type haploïde. La fertilité pollinique moyenne de cette génération a été de 73 p. 100, chiffre comparable à la fertilité de la plante FB 100 (voir tabl. 1).

— Par contre, le croisement avec la plante 19 a donné une descendance contenant des plantes avec des pourcentages de megapollen par rapport au pollen normal allant de 0 à 97 p. 100. Ayant fixé à 2 p. 100 le seuil en deçà duquel on peut considérer que la production de megapollen est un accident banal chez le Pétunia, les plantes de la génération (19 × TB 1-3) 70 × 19 se répartissent en deux catégories dont les effectifs sont les suivants : 62 plantes ne produisent pas (ou produisent moins de 2 p. 100) de megapollen et 46 en produisent plus de 2 p. 100. Pour une hypothèse de disjonction 1/1, c'est-à-dire : megapollen = aa, pollen haploïde = AA, $\chi^2 = 2{,}36$. Cette valeur du χ^2 est inférieure à la valeur théorique ($\chi^2 = 3{,}84$ au seuil de 5 pour 100 pour 1 d.d.l.). L'hypothèse d'une disjonction 1/1 n'est pas à rejeter à la vue des proportions obtenues.

Il convient aussi de remarquer que la fertilité pollinique moyenne de cette génération n'est que de 44 p. 100 contre 73 p. 100 dans le croisement avec la lignée TB 1-3 et que quelques plantes se sont même avérées complètement mâle-stériles.

III. — *Nature et fréquence des descendants non diploïdes des plantes produisant du megapollen*

Après les anomalies observées au cours de la microsporogenèse des plantes produisant du megapollen, et surtout si les mêmes phénomènes ont lieu au cours de la mégasporogenèse, on pouvait s'attendre à rencontrer dans leur descendance des individus

ayant des nombres chromosomiques variés : $3x$, $4x$, $6x$, $8x$ avec un certain nombre d'aneuploïdes intermédiaires. En réalité seules sont apparues des plantes tétraploïdes ($4x$) et trisomiques ($2x + 1$).

1. *Cas des tétraploïdes.*

Le tableau 2 montre l'évolution de la fréquence des plantes $4x$ obtenues au cours de la phase de sélection pour une forte proportion de megapollen.

TABLEAU 2

Évolution de la fréquence des plantes tétraploïdes au cours des trois générations de sélection pour une forte proportion de megapollen

Nature des descendances			Nombre de plantes analysées	Nombre de tétraploïdes	Pourcentage de tétraploïdes
F_3	FB-100-29	autofécondée	72	3	4,1
F_4	FB-100-29-69	autofécondée	144	1	0,6
	FB-100-29-46	autofécondée	72 (35 + 37)	11	15,3
F_5	FB-100-29-46-19	autofécondée	20	5	25,0

Il est remarquable que le pourcentage de plantes $4x$ obtenu augmente à chaque génération parallèlement à l'augmentation de la fréquence de megapollen (voir tabl. 1) pour atteindre une valeur importante à la cinquième génération. On peut aussi constater que, pour un même niveau de génération (F_4), deux plantes (69 et 46) produisant des pourcentages voisins de megapollen ne donnent pas obligatoirement naissance à des proportions comparables de plantes $4x$. Cette particularité est très certainement liée au caractère variable des anomalies méiotiques.

Il est remarquable aussi que la plante la plus fertile a produit le plus faible pourcentage de plantes tétraploïdes. Cette observation est encore renforcée lorsque l'on sait que les 72 plantes F_4 produites par l'autofécondation de la plante FB-100-29-46 sont issues de deux capsules (35 + 37 graines viables) alors qu'une seule capsule a suffi pour donner naissance aux 144 plantes issues de l'autofécondation de la plante FB-100-29-69. Le nombre de graines viables contenues dans les capsules diminue donc très fortement à mesure que le pourcentage de tétraploïdes augmente. Cette observation est la conséquence du fait que la fertilité pollinique diminue lorsque les proportions de megapollen sont en progression (tabl. 1). D'autre part, l'augmentation de fréquence du pollen $2x$ doit conduire à la formation d'un plus grand nombre de zygotes triploïdes qui avortent et contribuent à diminuer le nombre de graines produites dans chaque capsule. En effet, on a pu voir par ailleurs que les plante triploïdes sont difficiles à obtenir chez le Pétunia (résultats non publiés).

2. *Cas des trisomiques.*

Dans le cours du présent travail quelques trisomiques sont apparus dans deux générations d'autofécondation (3 pour 72 plantes en F_3 et 1 pour 144 plantes dans la F_4 : FB-100-29-69). Enfin 7 individus trisomiques ont été dénombrés dans deux descendances de 100 individus de la plante de quatrième génération (19) pollinisée d'une part avec du pollen de la lignée TB 1-3 et d'autre part avec du pollen de l'hybride (19 × TB 1-3). Aucune plante trisomique n'est apparue dans les croisements réciproques ce qui s'explique simplement par le fait que d'une part seule la plante 19 est génératrice de cellules reproductrices à 8 chromosomes, ce que l'on a pu observer, et que d'autre part, sur un même stigmate, le pollen haploïde normal a un pouvoir compétitif important.

L'apparition de plantes trisomiques dans des descendances de plantes haploïdes et de plantes asynaptiques ou desynaptiques n'est pas un fait nouveau : KHUSH (1973) en rapporte de nombreux exemples. Nos propres travaux nous avaient aussi permis de déceler neuf plantes trisomiques dans une descendance de 309 individus après un croisement diploïde × haploïde (MAIZONNIER, 1974). Notons que l'on n'a pas observé de plante trisomique ou tétrasomique dans la rare descendance autofécondée de la plante 19 ce qui confirme, comme on le verra par ailleurs, que la tétrasomie doit être le plus souvent létale chez le Pétunia.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Il ressort de l'ensemble de cette étude qu'il est possible d'obtenir, chez le Pétunia, des individus tétraploïdes et trisomiques avec des fréquences relativement importantes. Ces mutants numériques sont dus au fonctionnement d'un système génétique apparemment simple qui provoque un dérèglement variable de la méiose aboutissant à la production de cellules reproductrices non réduites, doublées ou aneuploïdes.

L'analyse génétique des phénomènes observés permet de conclure que la formation de ce megapollen avec une fréquence élevée est sous la dépendance d'un gène recessif dont l'action se trouve vraisemblablement modifiée par un certain nombre de gènes mineurs. L'augmentation de la fréquence du megapollen au cours des quatre générations d'autofécondation s'explique probablement par la mise en conditions d'activité de ces gènes mineurs.

Par ailleurs ce facteur aurait une expressivité variable, mais cette variabilité ne semble pas imputable au milieu extérieur. En effet, cette étude s'est déroulée pendant plusieurs années dans des conditions relativement variables sans que nous ayons pu noter une influence particulière d'un type d'environnement déterminé sur la production du megapollen.

Des systèmes de contrôle de la méiose et des appariements sont déjà connus : chez le Maïs, par exemple, BEADLE et MCCLINTOK (1928) et BEADLE (1930) ont décrit un gène récessif d'asynapsis (as), responsable d'une stérilité partielle provoquée par des troubles du fonctionnement de la méiose.

Dans le cas que nous venons d'étudier, des troubles fusoriaux, à l'origine de gamétophytes *2x* et *4x*, s'ajouteraient à un certain taux d'asyndèse responsable de la formation de gamétophytes aneuploïdes. Nous serions en présence d'un système géné-

tique perturbant la méiose, partiellement par le biais de l'activité fusoriale, mode d'action comparable à celui des agents mitoclasiques utilisés pour produire des polyploïdes artificiels.

D'un point de vue théorique, un tel système correspond à un des mécanismes de la genèse et de l'évolution des séries polyploïdes.

D'un point de vue pratique, ce système permet la production de $4x$ homogènes, exempts de chimères mixoploïdes. Mais ces polyploïdes restent porteurs du gène qui a permis leur apparition et qui est peu favorable au bon déroulement d'une méiose déjà perturbée par l'état autopolyploïde. Aussi, bien que ces tétraploïdes soient apparus naturellement, sans l'action plus ou moins traumatisante d'un agent mitoclasique, on ne peut guère espérer résoudre par ce mode d'obtention les problèmes d'aneuploïdie et de manque de fertilité que posent généralement les autotétraploïdes artificiels.

D'ores et déjà, une descendance autofécondée (80 plantes) d'un individu $4x$ obtenu en F_3 a été étudiée. La tétraploïdie est transmise normalement, sans nouvelle polyploïdisation ni retour à l'état diploïde, mais cette descendance contenait 24 p. 100 d'individus aneuploïdes à 27 et 29 chromosomes. Comme l'indique le tableau 1 et comme on pouvait l'attendre, la plante mère de cette descendance avait une fertilité pollinique assez faible (voisine de 15 p. 100). L'état autotétraploïde, la présence du système de dérèglement de la méiose et un certain niveau de consanguinité sont à l'origine de cette faible fertilité pollinique mais la part revenant à chacune de ces trois causes est difficile à évaluer.

Seule la comparaison de tétraploïdes obtenus, d'une part grâce au système que nous venons d'analyser et d'autre part à l'aide d'un agent polyploïdisant permettrait de connaître avec précision les avantages et les limites de la polyploïdisation naturelle.

Enfin l'intérêt de connaître et de posséder la série des trisomiques primaires d'une espèce est évident lorsque l'on sait l'utilisation que l'on peut faire de telles plantes pour la localisation des gènes sur les chromosomes. Il peut donc être précieux d'exploiter une telle source de trisomiques. Compte tenu de leur mode d'obtention, il convient toutefois de les utiliser à l'état hybride pour leur assurer une méiose normale.

Reçu pour publication en février 1975.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier MM. S. Essad et G. Salesses pour l'amélioration qu'ils ont apportée à ce travail grâce aux remarques et aux conseils formulés après la lecture du manuscrit.

SUMMARY

PRODUCTION OF NATURAL TETRAPLOIDS AND TRISOMICS IN *PETUNIA HYBRIDA*

Plants of Petunia producing normal pollen, di-, tetra, and aneuploid spores, were obtained through a selfing selection process. These plants produced natural tetraploids and trisomics at relatively high frequencies : 25 p. 100 of $4x$ in F_5, and up to 7 p. 100 of $2x + 1$ in some generations.

These numerical mutants originated from abnormal meiosis (spindle disturbances and partial asynapsis) apparently due to a recessive genetic factor.

Theoretical and practical aspects of such a system are discussed.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ALEXANDER M. P., 1969. Differential staining of aborted and non aborted pollen. *Stain Technol.*, **44** (3), 117-122.

BEADLE G. W., 1930. Genetical and cytological studies of Mendelian asynapsis in *Zea mays*. *Cornell Univ. agric. exp. Sta, Memoir.*, **129**, 1-23.

BEADLE G. W., MCCLINTOCK B., 1928. A genic disturbance of meiosis in *Zea mays*. *Science*, **68**, 433.

BINGHAM E. T., 1969. Experimental polyploid evolution in *Medicago sativa*. *Genetics*, **61**, suppl., 2, p. s 4.

BINGHAM E. T., 1972. Sexual polyploidy in *Medicago sativa*. *Genetics*, **71**, suppl., 3, p. s 5.

BRINGHURST R. S., GILL T., 1970. Origin of *Fragaria* polyploids. II. Unreduced and doubled unreduced gametes. *Amer. J. Bot.*, **57** (8), 969-976.

BRINGHURST R. S., BARRIENTOS F., 1972. Unreduced and doubled unreduced gametes in the evolution of allo-autopolyploid *Fragaria*. *Genetics*, **71**, 3, suppl. 2, p. s 7.

CORNU A., MAIZONNIER D., 1970. Origine et comportement méiotique d'un Pétunia haploïde. *C. R. Acad. Sci. Paris*, sér. D., **270**, 301-313.

DARLINGTON C. D., 1965. *Cytology* p. 190-191 et 523 J. et A. Churchill LTD London.

KHUSH G. S., 1973. *Cytogenetics of Aneuploids* p. 12 à 16. Academic Press. New York and London.

MAIZONNIER D., PICARD J., 1970. Le manque de fertilité chez le Trèfle violet autotétraploïde (*Trifolium pratense* L.). II. Étude de quelques aspects de l'aneuploïdie. *Ann. Amélior. Plantes*, **20**, (4), 407-420.

MAIZONNIER D., 1971. Utilisation des plantes haploïdes pour l'analyse du caryogramme de *Petunia hybrida* HORT. *Ann. Amélior. Plantes*, **21** (3), 257-264.

MAIZONNIER D., CORNU A., 1971. A telocentric translocation responsible for variegation in Petunia. *Genetica*, **42**, (4), 422-436.

MAIZONNIER D., 197.4 Comportement méiotique et descendances des plantes haploïdes de Pétunia. *Polyploidy and induced mutations in plant breeding*. F.A.O. and IAEA, EUCARPIA, Bari 2-10 oct. 1972, Vienne, IAEA, Panel Proc. Ser, 205-219.

MATSUDA H., 1930. Further studies on the origin of giant pollen grains in Petunia. *Proc. Crop. Sci. Soc. Japan*, 2 (2).

MATSUDA H., 1934. Experimental pollination with giant pollen grains of Petunia. *Bot. Mag.*, **48**, (572), 552-557.

SNYDER L. A., 1961. Asyndesis and meiotic non-reduction in microsporogenesis of apomictic *Paspalum secans*. *Cytologia*, **26**, 50-61.

WAGENAAR E. B., 1968. Meiotic restitution and the origin of polyploidy. I. Influence of genotype on polyploid seedset in a *Triticum crassum* × *Triticum turgidum* hybrid. II. Prolonged duration of MI as causal factor of restitution induction. *Canad. J. Genet. Cytol.*, **10**, (4), 836-852.

WALTERS M. S., 1958. Aberrant chromosome movement and spindle formation in meiosis of *Bromus* hybrids : an interpretation of spindle organization. *Amer. J. Bot.*, **45**, 271-289.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (2), 319-326.

MÉTHODE DE SÉLECTION DE LA TOMATE AU STADE PLANTULE POUR LA RÉSISTANCE A *PYRENOCHAETA LYCOPERSICI*

M. CLERJEAU et H. LATERROT*
avec la collaboration technique de Hélène THOMAS*

Station de Pathologie végétale,
** Station d'Amélioration des Plantes maraîchères,*
Centre de Recherches d'Avignon, I. N. R. A.,
84140 Montfavet

RÉSUMÉ

Actuellement, la sélection de tomates résistantes à *Pyrenochaeta lycopersici* s'effectue, en conditions d'infection naturelle, sur des plantes âgées de 4 à 5 mois. Les problèmes de temps et d'espace soulevés par une telle méthode ont rendu nécessaire la mise au point d'une technique de tri rapide en conditions de contamination artificielle. Les graines sont semées directement dans un mélange de terreau et de sable infesté par de l'inoculum produit en culture pure dont le pouvoir pathogène a été testé au préalable. La notation s'effectue sur le pivot après élevage des plantes à 20°C pendant 5 à 6 semaines. Des résultats comparatifs obtenus sur diverses variétés, selon les deux techniques, permettent de dégager et de discuter l'intérêt de cette méthode de sélection précoce.

INTRODUCTION

La maladie des racines liégeuses ou « corky root » due à *Pyrenochaeta lycopersici* SCHNEIDER et GERLACH entraîne dans les cultures de Tomate des baisses de production souvent importantes. Celles-ci justifient, sous serre, l'utilisation de méthodes de lutte onéreuses telles que le greffage sur variétés résistantes ou la désinfection du sol par la vapeur ou des fumigants chimiques. Mais ces moyens ne peuvent pas être envisagés à l'échelle des cultures de plein champ où le parasite sévit également. Cette situation motive le développement de programmes de sélection pour la résistance variétale à *P. lycopersici*.

Des caractères de résistance à *P. lycopersici* ont été mis en évidence dans plu-

sieurs espèces de *Lycopersicon* et font l'objet de programmes d'introgression chez des variétés cultivables, notamment aux Pays-Bas, en Grande-Bretagne et en France. Actuellement, les sélectionneurs effectuent le tri sur des plantes âgées de quatre à cinq mois, cultivées pendant les trois derniers mois au moins, en sol infesté (TERMOHLEN, 1962 ; HOGENBOOM, 1970 ; LATERROT, 1972). La variabilité du pouvoir pathogène des isolats conservés *in vitro* est à l'origine de nombreux aléas dans la réussite des contaminations artificielles et a motivé la recherche de techniques d'infection naturelle. Cependant, ces méthodes posent des problèmes de temps et d'espace qui retardent les programmes de sélection. A ces problèmes, il convient d'ajouter les riques d'attaques des racines par d'autres parasites telluriques tels que *Colletotrichum coccodes* (WALBR) HUGHES et *Meloidogyne* sp., qui peuvent perturber les notations.

La mise au point d'une technique de tri rapide sur jeunes plantes s'avérant nécessaire, nous avons étudié l'incidence de divers paramètres influant sur la réponse de tomates âgées de cinq à six semaines contaminées artificiellement. Ce travail nous permet aujourd'hui de proposer une méthode de sélection précoce des tomates résistantes à *P. lycopersici* qui est décrite et discutée dans cette note.

I. — DESCRIPTION DE LA MÉTHODE

La technique repose sur un élevage des tomates, depuis le semis et pendant une quarantaine de jours, sur un substrat artificiellement infesté dans des conditions définies.

I. — *Préparation de l'inoculum*

a) *Choix de l'isolat de* P. lycopersici.

Compte tenu des grandes différences d'agressivité entre isolats et de sa variation possible lors de la conservation *in vitro*, une attention toute particulière doit être portée aux choix des isolats utilisés par les « tests ».

Certains auteurs ont proposé des méthodes pour maintenir le pouvoir pathogène des isolats : repiquages fréquents et stockage à basse température (TERMOHLEN, 1962), repiquages sur un mélange de terre et de racines de tomates stériles puis stockage à 5°C (GOODENOUGH et MAW, 1973). Cependant, il nous paraît nécessaire de contrôler le pouvoir pathogène des isolats préalablement à toute multiplication destinée à un essai important. Pour cela, nous utilisons la méthode d'inoculation rapide de plantules de tomates sensibles de 5 jours décrite par CLERJEAU et CONUS (1973). Sur les colonies d'une dizaine d'isolats récents de *P. lycopersici*, cultivées en boîtes de Petri et âgées de 10 jours environ, plusieurs explantats sont prélevés aseptiquement et placés au contact de radicules des tomates. L'appréciation des nécroses obtenues sur les racines, une semaine plus tard, permet de sélectionner deux ou trois isolats agressifs qui sont multipliés individuellement puis inoculés aux plantes, en mélange.

b) *Production de l'inoculum.*

Les explantats de champignon destinés à l'ensemencement de multiplication sont prélevés directement à la périphérie des colonies choisies dont le pouvoir pathogène vient d'être éprouvé. Celles-ci sont alors âgées d'une vingtaine de jours.

La multiplication de l'inoculum en bouteilles de 1 litre à large ouverture peut être réalisée sur divers milieux de culture ayant pour support de la vermiculite ou du terreau. Mais à l'expérience, nous préférons un milieu constitué de sable (500 ml), de farine d'avoine (15 g) et d'eau permutée (40 ml) qui nécessite un double autoclavage de 20 mn à 120°C [1].

[1] Composition communiquée par P. DAVET, mission O.R.S.T.O.M., Département de Phytopathologie, I.R.A.L., Fanar (Liban).

Durant l'incubation, l'éclairage n'est pas indispensable. Une dizaine de jours après l'ensemencement, une agitation manuelle des bouteilles permet de disperser l'inoculum dans tout le milieu, donc d'augmenter sa multiplication.

Après un mois environ d'incubation à 25°C, le contenu des bouteilles est vidé, puis émietté par un passage sur tamis à mailles de 3 millimètres.

II. — *Infestation du substrat*

L'inoculum est incorporé au substrat de culture des tomates de façon homogène, par agitation dans une baratte.

a) *Nature du substrat.*

Le mélange, à volume égal, de terreau tourbeux (1) et de sable silicieux s'est avéré répondre à la nécessité d'un élevage homogène et régulier des plants tout en permettant un arrachage et un lavage facile des racines avant la notation.

Le substrat doit être désinfecté à la vapeur avant son infestation par *P. lycopersici*.

b) *Quantité d'inoculum et nature des contenants.*

Le taux d'inoculum apporté au substrat a une incidence sur l'intensité des attaques des plantes, même résistantes. Des proportions en volume de 1/4 d'inoculum et 3/4 de substrat permettant généralement une bonne discrimination entre plantes sensibles et résistantes.

En revanche, il a été vérifié que la nature et le volume des contenants n'ont pas d'influence sur l'expression de la résistance à un stade précoce. Aussi, pour utiliser un minimum d'inoculum par plante, nous élevons les tomates dans des terrines à semis de 36 cm × 25 cm × 5 cm à raison de 40 plantes par terrine.

III. — *Culture des plantes*

Les graines sont semées directement dans une couche de terreau sableux désinfecté, d'environ 1 cm d'épaisseur, apportée à la surface du substrat infesté. Cette couche permet d'éviter les fontes de semis qui peuvent résulter d'attaques très précoces de *Pyrenochaeta* sur la radicule. Après une période de germination d'une semaine sous serre, les plantules sont placées en enceinte climatisée à la température de 18°-20°C et éclairées 16 heures par jour par des tubes fluorescents apportant 5 000 lux au niveau des plantes. Au bout du quinzième jour après le semis, les terrines sont arrosées deux fois par semaine avec de la solution de Knop.

IV. — *Notations*

Cinq à six semaines après le semis, les plantes sont arrachées avec précaution ; leurs racines sont débarrassées du terreau, puis lavées à l'eau. Le système de notation retenu consiste à attribuer au pivot, et à lui seul, une note d'attaque comprise entre 0 et 5 dont la signification est indiquée dans le tableau 1. L'observation est meilleure quand les racines sont plongées dans l'eau d'un récipient en verre.

II. — RÉSULTATS D'APPLICATIONS DE LA MÉTHODE

Afin de juger la valeur de la méthode décrite pour la sélection, nous rapportons ici les résultats de plusieurs essais réalisés avec une série de lignées et hybrides F_1, connus pour leur niveau de résistance au « Corky root », contaminés selon la méthode décrite (tabl. 1) et selon la technique classique de culture en serre infestée (tabl. 2).

(1) Terreau tourbeux obtenu en mélangeant deux volumes de terreau maraîcher (Dega, qualité Tomate) à un volume de tourbe enrichie (TKS 2).

TABLEAU I

Comportement de différentes variétés contaminées par Pyrenochaeta lycopersici *selon la méthode rapide*

Répartition des plantules en pourcentage selon l'importance de l'attaque sur le pivot

Essais	Variétés	Notes d'attaques sur pivot					
		0	1	2	3	4	5
Essai 1 (37 jours)	« Monalbo »	0	4	17	17	44	17
	Moboglan 2	92	8	0	0	0	0
Essai 2 (37 jours)	« Monalbo »	0	0	15	30	10	45
	Moboglan 2	85	15	0	0	0	0
Essai 3 (38 jours)	« Monalbo »	0	3	13	17	27	40
	L. hirsutum H2	83	17	0	0	0	0
	Mobohir 1	17	37	30	13	3	0
	IVT 65603	93	7	0	0	0	0
	Moboglan 2	97	3	0	0	0	0
	F_1 « Monalbo » × « Pannevis 02126 K »	0	50	33	13	3	0
Essai 4 (1) (37 jours)	« Monalbo »	0	58	13	17	13	0
	L. hirsutum H2	88	13	0	0	0	0
	F_1 « Monalbo » × *L. hirsutum* H2	53	28	9	9	0	0
	Mobohir 1	38	43	10	5	5	0
	Moboglan 2	92	8	0	0	0	0
	F_1 « Monalbo » × Moboglan 2	0	60	20	20	0	0
	« Espalier »	42	46	8	4	0	0
Essai 5 (39 jours)	« Monalbo »	0	0	0	13	38	51
	L. hirsutum H2	71	29	0	0	0	0
	F_1 « Monalbo » × *L. hirsutum* H2	23	38	23	15	0	0
	Mobohir 1	0	26	52	17	4	0
	Moboglan 2	87	13	0	0	0	0
	F_1 « Monalbo » × Moboglan 2	0	4	8	21	33	33
	« Espalier »	0	13	29	38	21	0

Notes 0 : Aucune nécrose visible.
1 : Petites lésions nécrotiques rares et peu colorées.
2 : Lésions nécrotiques déterminant par confluence des taches brunes bien visibles recouvrant moins de la moitié de la surface du pivot.
3 : Taches brunes plus nombreuses affectant plus de la moitié de la surface du pivot.
4 : Pivot presque totalement nécrosé.
5 : Nécrose complète ou destruction du pivot.

(1) Dans cet essai, l'inoculum a été fragmenté sur un tamis à mailles de 1,5 mm, donc réduit à l'état de plus fines particules que dans les autres essais.

TABLEAU 2

Comportement de différentes variétés
après 3 mois de culture en sol de serre infesté par Pyrenochaeta lycopersici

Répartition des plantes en pourcentage
selon l'importance de l'attaque de l'ensemble du système racinaire

Essais	Variétés	Notes d'attaques sur l'ensemble du système racinaire (1)					
		0	1	2	3	4	5
Automne 1972	« Monalbo »	0	0	0	14	52	33
	F_1 « Monalbo » × *L. hirsutum* H2	67	33	0	0	0	0
	« Espalier »	0	46	38	15	0	0
Printemps 1973	« Monalbo »	0	0	0	5	80	15
	Mobohir 1	5	84	11	0	0	0
	« Pannevis 02126 K »	4	96	0	0	0	0
	F_1 « Monalbo » × « Pannevis 02126 K »	0	0	45	50	5	0
Automne 1973	« Monalbo »	0	0	0	5	42	53
	« Pannevis 02126 K »	0	20	80	0	0	0
	F_1 « Monalbo » × « Pannevis 02126 K »	0	0	0	89	11	0
	« Espalier »	0	0	80	20	0	0
Printemps 1974	« Monalbo »	0	0	0	14	52	34
	Mobohir 1	0	60	30	10	0	0
	Moboglan 2	0	90	10	0	0	0
Automne 1974	« Monalbo »	0	0	0	0	44	56
	Mobohir 1	0	11	74	16	0	0
	IVT 65603	0	19	56	25	0	0
	Moboglan 2	0	39	61	0	0	0
Printemps 1975	« Monalbo »	0	0	0	11	63	26
	Mobohir 1	0	100	0	0	0	0
	Moboglan 2	0	100	0	0	0	0
	F_1 « Monalbo » × « Pannevis 02126 K »	0	0	64	36	0	0

(1) Ces notes sont fonction de la gravité des attaques. Pour permettre une référence au système de notation anglais ou hollandais, fondé sur le pourcentage de système racinaire nécrosé ou liégeux, la relation suivante peut être donnée :

Notes	*Taux d'attaques sur racines* (p. 100)
0	0-5
1	5-15
2	15-30
3	30-60
4	60-95
5	95-100

Les variétés utilisées étaient les suivantes :

— « Monalbo » : variété *INRA*, témoin de sensibilité à *P. lycopersici ;*
— *Lycopersicon hirsutum* var. *glabratum*, lignée H2, sélectionnée à partir de PI 129157, possédant un haut niveau de résistance.
— Hybride F_1 « Monalbo » × H2 ;
— Mobohir 1 : lignée INRA issue de quatre recroisements de H2 par « Monalbo » ;
— IVT 65603 : lignée obtenue par l'IVT (1) à l'issue d'un programme de recroisements de *Lycopersicon glandulosum* par la Tomate et possédant le gène incomplètement dominant *py* de résistance à *P. lycopersici* (T. G. C., 1973) ;
— « Pannevis 02126 K » : hybride F_1 fabriqué à partir de deux lignées possédant probablement la résistance de *Lycopersicon glandulosum ;*
— Hybride F_1 « Monalbo » × « Pannevis 02126 K » ;
— Moboglan 2 : lignée INRA issue du croisement « Pannevis 02126 K » × « Monalbo » ;
— Hybride F_1 « Monalbo » × Moboglan 2 ;
— « Espalier » : lignée de *Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*, faiblement résistante à la maladie (LATERROT, 1972).

Dans chaque essai, une vingtaine de plantes était utilisées par variété.

Les résultats rassemblés sur les tableaux 1 et 2 montrent que les résistances issues de *Lycopersicon hirsutum*, *Lycopersicon glandulosum* et « Espalier » s'expriment avec même netteté quelle que soit la méthode utilisée. Les faibles lésions notées sur l'ensemble des plantes de l'essai 4 (tabl. 1)sont vraisemblablement en relation avec le tamisage trop poussé de l'inoculum. En effet, les arrosages peuvent éliminer par lessivage les trop fines particules d'inoculum donc réduire le potentiel infectieux du substrat. Néanmoins, même dans cet essai, la discrimination entre plantes sensibles et résistantes est possible.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Chez les variétés de tomates issues de *Lycopersicon glandulosum*, *Lycopersicon hirsutum* et « Espalier », la résistance peut s'exprimer à l'âge de cinq à six semaines, dans les conditions d'infection décrites. Dans tous les essais réalisés, la variété sensible « Monalbo » a été la plus attaquée. Il paraît donc possible de sélectionner précocement, dans ces conditions, les plantes résistantes. L'étude de nombreuses autres lignées a confirmé la similitude qui existe entre les classements variétaux après trois mois de culture en serre infestée ou après 35 à 40 jours en terrines artificiellement infestées. Considérant que cette méthode rapide est fiable, nous avons commencé à l'utiliser pour trier les lignées homozygotes *py*/*py*. Les premiers essais de tri individuel des plantes F_2 ont donné en outre des résultats encourageants. Ceux-ci permettent de penser que dans l'avenir, seules les plantes trouvées résistantes au stade plantule seront repiquées en parcelle de serre naturellement infestée. Il serait alors possible de faire une sélection pour d'autres caractères agronomiques, sur un plus grand nombre de plantes résistantes.

(1) Institut voor de Veredeling van Tuinbouwgewassen, Wageningen (Pays-Bas).

Si la simplicité de la méthode décrite contraste curieusement avec les difficultés éprouvées par les sélectionneurs depuis une quinzaine d'années, elle ne doit pas cacher la nécessité de respecter un minimum de précautions essentielles : choix d'isolats à pouvoir pathogène confirmé, utilisation d'un taux d'inoculum suffisant pour obtenir des nécroses graves sur les plantes sensibles, respect d'une température adéquate durant le « test ».

Les principales difficultés soulevées par la technique résultent de la ténuité du système racinaire de certaines variétés en début de croissance, notamment *Lycopersicon hirsutum*, qui rend difficile la notation des attaques. De même, l'étalement dans le temps de la germination de certains lots, par exemple l'hybride F_1 « Monalbo » × *Lycopersicon hirsutum*, est à l'origine de variations entre notes du fait des différences de durées d'infection entre plantes.

Sur un plan pratique, il est intéressant de constater que la résistance peut s'exprimer chez les jeunes plantes car, en culture, ce sont les attaques précoces qui déterminent les plus grandes baisses de production (LAST et EBBEN, 1966).

Sur le plan génétique, il ressort, qu'à l'état homozygote ou hétérozygote, les gènes de résistance issus de *Lycopersicon glandulosum* et *Lycopersicon hirsutum* fonctionnent chez les jeunes plantes, de la même façon que chez les plantes âgées. Le gène *py*, en particulier, se confirme incomplètement dominant.

La comparaison des attaques sur les lignées Mobohir 1 et Moboglan 2, dans les essais de sélection précoce, fait apparaître une meilleure résistance de la seconde variété. Lors d'essais de comportement, réalisés dans des serres de la région d'Avignon, en sol très contaminé, la supériorité de Moboglan 2 sur Mobohir 1 nous était déjà apparue. Au Liban, Davet (communication personnelle) a pu faire la même observation. Cependant, dans les conditions de notre serre naturellement infestée, Mobohir 1 se montre aussi résistant que Moboglan 2. Ces variations dans le degré de résistance apparent de Mobohir 1 traduisent vraisemblablement l'existence d'une relation entre le niveau de résistance exprimé et la pression d'inoculum. Une telle relation mériterait d'être étudiée. Elle pourrait résulter d'une mobilisation de la résistance, après la pénétration du parasite, moins active chez Mobohir 1 que chez Moboglan 2.

Reçu pour publication en juillet 1975.

SUMMARY

A METHOD FOR SCREENING TOMATO SEEDLINGS RESISTANT TO *PYRENOCHAETA LYCOPERSICI*

For some reasons which are analysed, tomato selection for *Pyrenochaeta lycopersici* resistance is carried out on 3 or 4 months plants grown in naturally infested soil. Problems of time and space raised with such a method have got necessary an artificial and rapid inoculation technique suitable for breeding work. Details are given here about a method we devised and we have perfected. Its principle consists in sowing tomato seeds in mixed sand and compost infested with a *Pyrenochaeta lycopersici* pure culture, pathogenicity of which has been confirmed previously. After five or six weeks at 20°C plants are rooted up and taproots attacks are noted. Ways of choosing virulent isolates, producing inoculum, infesting soil containers and growing

plants are described. Some comparative results obtained with different varieties, with both artificial and natural methods, allow to bring out and discuss the interest of the rapid screening test.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

CLERJEAU M., CONUS M., 1973. Méthode rapide de contamination de jeunes plantules de tomates par *Pyrenochaeta lycopersici* SCHNEIDER et GERLACH. *Ann. Phytopathol.*, **5** (2), 143-150.

GOODENOUGH P. W., MAW G. A., 1973. Effects on nutrient uptake of tomato plants infected by *Pyrenochaeta lycopersici*. *Ann. appl. Biol.*, **73**, 339-347.

HOGENBOOM N. G., 1970. Inheritance of resistance to Corky-root in Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. *Euphytica*, **19**, 413-425.

LAST F. T., EBBEN M. H., 1966. The epidemiology of Tomato brown Root rot. *Ann. Appl. Biol.*, **57**, 95-112.

LATERROT H., 1972. Une résistance à la maladie des racines liégeuses chez la Tomate. *Ann. Amélior. Plantes*, **22** (1), 109-113.

TERMOHLEN G. P., 1962. On Corky-root of tomato and the Corky-root fungus. (Neerlandais). *Tijdschr. Plantenzickt.*, **68**, 295-367.

Tomato Genetics Cooperative Report, 1973, **23**, p. 6.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (2), 327-343.

PRINCIPES ET MÉTHODES DE MESURE DE LA SURFACE FOLIAIRE. ESSAI DE CARACTÉRISATION DES TYPES DE FEUILLES DANS LE GENRE *VITIS*

A. CARBONNEAU
avec la collaboration technique de C. Boussion

Station de Recherches de Viticulture,
Centre de Recherches de Bordeaux, I. N. R. A.,
33140 Pont-de-la-Maye

RÉSUMÉ

Divers principes et méthodes de mesures simples, rapides et précises de surface foliaire sont étudiés dans le genre *Vitis*. Le résultat le plus intéressant (avec moins de 5 p. 100 d'erreur) est fourni par la mesure de la somme des longueurs des deux premières nervures latérales (ΣL_2) qui est en bonne corrélation avec la surface réelle. Une autre technique, un peu plus précise, par « calibrage » pourrait également présenter un intérêt.

Un essai d'interprétation des résultats et de schématisation de la feuille de Vigne est tenté. Il a permis de définir un coefficient φ caractérisant le type foliaire et expliquant, à 5 p. 100 d'erreur près, la liaison entre $(\Sigma L_2)^2$ et l'aire réelle. φ est établi à partir de mesures de longueur, de largeur et de découpure de la feuille, ramenées à ΣL_2, ce qui est suffisant pour établir une échelle de surface en fonction de ΣL_2.

I. — INTRODUCTION

La détermination de la surface foliaire est susceptible d'intéresser plusieurs secteurs de la recherche. Elle doit pouvoir être réalisée grâce à une méthode de mesure simple, rapide, précise (moins de 5 p. 100 d'erreur) et compatible avec la vie de la feuille et de la plante.

Certains auteurs (Conibear et Furmidge, 1960 ; Kvet et Marshall, 1971 ; Voisey et Kloek, 1964) ont abordé le problème en essayant de mettre au point des techniques permettant de mesurer directement des surfaces foliaires, considérées comme écrans à des rayons lumineux. Un inconvénient apparaît d'emblée : ces déterminations sont difficilement réalisables sur la feuille en place, notamment au champ.

D'autres auteurs se sont orientés vers des principes de superposition à des modèles ou des calibres de référence ; c'est le cas de Freeman et Bolas (1955), Heinicke (1963), Humphries et French (1963), Wilson (1965). Le désavantage inhérent à ces techniques est surtout le manque de rapidité.

Certains chercheurs enfin comme Bajescu, Poenaru et Corbeanu (1957), Blaha (1966), Burton (1960), Galet (1971), Hegedus (1963), Manivel et Weaver (1974), Melville (1960), Turkovic (1966) ont préféré la voie des mesures de paramètres linéaires en établissant leurs corrélations avec la surface correspondante. Il s'agit ici de méthodes simples, rapides, ne détruisant pas la feuille, mais fournissant des précisions inférieures à 95 p. 100 en général, ou du moins rarement reproductibles.

Nous avons tenté, en conservant le principe de mesure de paramètres linéaires, de diminuer les risques d'erreurs et l'incertitude de la méthode, d'expliquer les résultats obtenus, puis de caractériser les types foliaires dans le genre *Vitis*.

Notre étude a été réalisée sur 9 variétés du genre *Vitis*. Nous avons pris soin de les choisir très différentes les unes des autres, en essayant de couvrir la gamme de variation des types foliaires chez la Vigne. Cette précaution nous semble obligatoire si nous voulons proposer une technique valable pour l'ensemble du genre *Vitis*.

II. — MATÉRIEL, MÉTHODES ET PRINCIPES

1. — *Choix des variétés*

Notre premier souci a été de constituer un échantillonnage représentatif de la diversité des types foliaires dans le genre *Vitis*. Nous avons été guidés dans ce choix par la méthode ampélographique de Galet (1971), ce qui nous a conduit à choisir les 9 variétés suivantes :

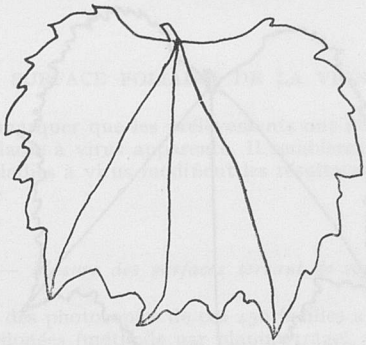
1) *Vitis rupestris*, c. v. « du Lot », clone n° T 23-6 (GF) : à feuille réniforme, entière ;
2) *Vitis vinifera*, c. v. « Cot », clone n° 1056 (GF) : à feuille orbiculaire, entière ;
3) *Vitis vinifera*, c. v. « Pinot noir », clone n° 8041 (GF) : à feuille orbiculaire entière ;
4) *Vitis vinifera*, c. v. « Folle blanche », clone n° 7993 (GF) : à feuille orbiculaire, découpée ;
5) *Vitis vinifera*, c. v. « Cabernet-Sauvignon », clone n° 5158 (GF) : à feuille orbiculaire, très découpée ;
6) *Vitis vinifera*, c. v. « Grenache noir », clone n° 6662 (GF) : à feuille cunéiforme, entière ;
7) *Vitis vinifera*, c. v. « Merlot noir », clone n° 2141 (GF) : à feuille cunéiforme, très découpée ;
8) *Vitis vinifera*, c. v. « Tannat », clone n° 8030 (GF) : à feuille tronquée, assez découpée ;
9) *Vitis cinerea*, clone mâle n° 10083 (GF) : à feuille cordiforme, assez découpée ;

Les mesures de certains paramètres cités dans la suite du texte illustreront la diversité de ces types foliaires (fig. 1).

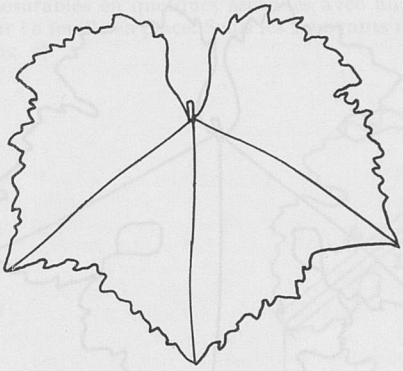
2. — *Échantillonnage*

Les prélèvements ont été réalisés fin juin 1974 dans la collection de la Station de Recherches de Viticulture à la « Grande Ferrade ». Ceux-ci ont été effectués au hasard sur 5 à 10 ceps de vigueur différente, d'un clone d'une variété (parfois unique dans la collection), ce qui a permis d'obtenir, pour chaque variété, des échantillons de 50 feuilles, de tous les âges, de toutes les tailles, symétriques ou non. Quelques essais avec un nombre supérieur de feuilles (75) n'ont pas donné de résultats réellement meilleurs.

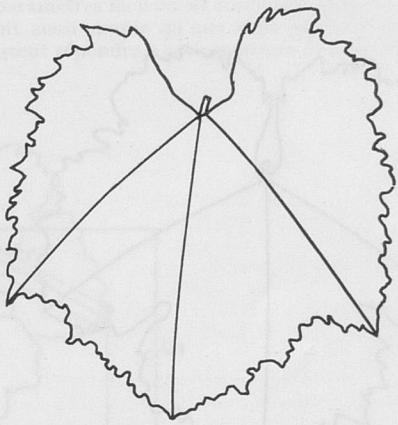
Afin de faciliter les mesures ultérieures et le stockage de l'information, nous avons tiré, immédiatement après la récolte, des photocopies de ces feuilles de Vigne, en prenant soin de bien étaler ces dernières sur l'appareil. Toutes les feuilles ont de ce fait été transformées en leur projection plane, ce qui est nécessaire à leur mesure.



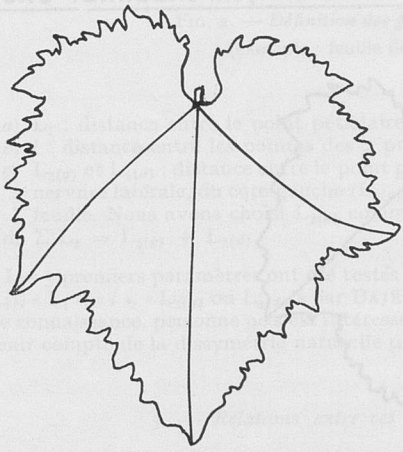
VITIS RUPESTRIS, C.V. DU LOT



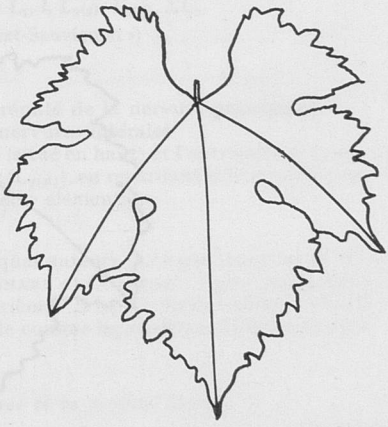
VITIS VINIFERA, C.V. PINOT NOIR



VITIS VINIFERA, C.V. COT



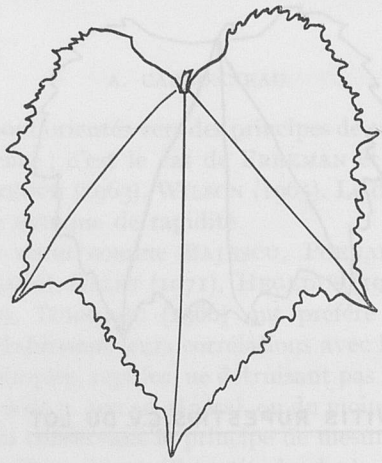
VITIS VINIFERA, C.V. GRENACHE NOIR



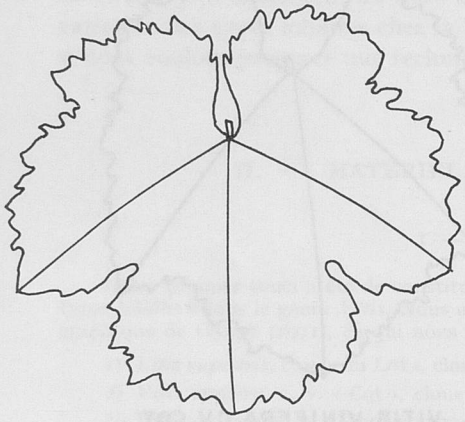
VITIS VINIFERA, C.V. MERLOT NOIR

FIG. 1. — *Croquis des feuilles des 9 variétés étudiées*

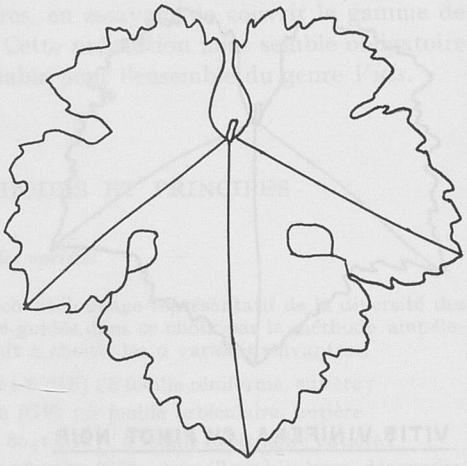
(voir suite page ci-après)



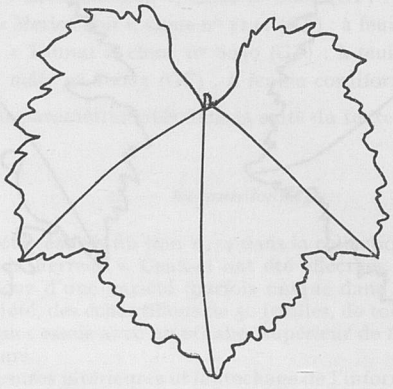
VITIS CINEREA (CLONE MÂLE)



VITIS VINIFERA, C.V. FOLLE BLANCHE



VITIS VINIFERA, C.V. CABERNET SAUVIGNON



VITIS VINIFERA, C.V. TANNAT

FIG. 1 (suite)

Il convient enfin de remarquer que les prélèvements ont été effectués uniquement sur des ceps indemnes de toute maladie à virus apparente, Il semblerait du reste intéressant pour des virologues de voir si les maladies à virus modifient les résultats que nous avons obtenus sur la variété saine correspondante.

3. — *Mesure des surfaces servant de référence*

La mesure des surfaces des photocopies de ces 450 feuilles a été rendue possible grâce à un lecteur électronique de coordonées (méthode par planimétrage), très sensible, couplé à une calculatrice Hewlett-Packard nº 9810. Le contour tout entier de la feuille a été repéré par le lecteur. Nous pouvons donc penser que les aires ainsi obtenues sont, à peu de chose près, les aires réelles des projections planes des feuilles. Le recouvrement éventuel des lobes est entré en ligne de compte.

4. — *Choix des paramètres*

Le but principal de ce travail a été le choix des paramètres facilement reconnaissables à l'œil, mesurables en quelques secondes avec un instrument aussi simple qu'une règle graduée, et ce, sur la feuille en place. Seuls les 4 suivants nous paraissent répondre à ces conditions chez la Vigne (fig. 2).

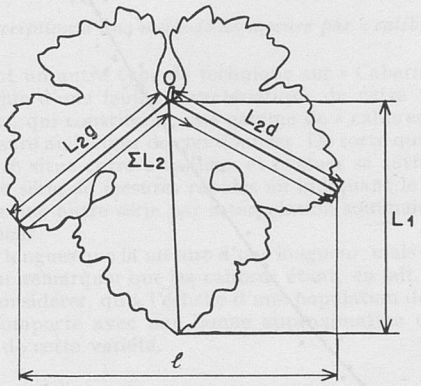


FIG. 2. — *Définition des paramètres* L_1, l, $L_{2(g)}$, $L_{2(d)}$, ΣL_2
(exemple : feuille de « Cabernet-Sauvignon »)

a) L_1 : distance entre le point pétiolaire et l'extrémité de la nervure principale ;
b) l : distance entre les pointes des 2 premières nervures latérales ;
c) $L_{2(g)}$ et $L_{2(d)}$: distance entre le point pétiolaire (situé en haut) et l'extrémité de la première nervure latérale, du côté gauche ($L_{2(g)}$) et droit ($L_{2(d)}$), en regardant la face supérieure de la feuille. Nous avons choisi $L_{2(g)}$ comme paramètre élémentaire ;
d) $\Sigma L_2 = L_{2(g)} + L_{2(d)}$.

Les 3 premiers paramètres ont été testés par quelques auteurs : « l » par MANIVEL et WEAVER (1974), « L_1 », « l », « $L_{2(g)}$ ou $L_{2(d)}$ » par BAJESCU, POENARU et CORBEANU (1957) en particulier. A notre connaissance, personne ne s'est intéressé au quatrième : ΣL_2. Ce dernier présente l'avantage de tenir compte de la dissymétrie naturelle de la feuille comme les résultats le confirmeront.

5. — *Relations entre ces paramètres et la surface foliaire*

Toutes les mesures précédemment définies ont été effectuées sur chacune des 450 feuilles. La relation qui existe entre chacun de ces 4 paramètres (longueur en cm) et la surface foliaire (en cm^2) correspondante est une parabole (fig. 3).

De ce fait, pour chacune des 9 variétés, nous avons calculé les régressions paraboliques (du type : $y = a_0 + a_1x + a_2x^2$), fournies par la méthode des moindres carrés, de la surface sur chacun des 4 paramètres.

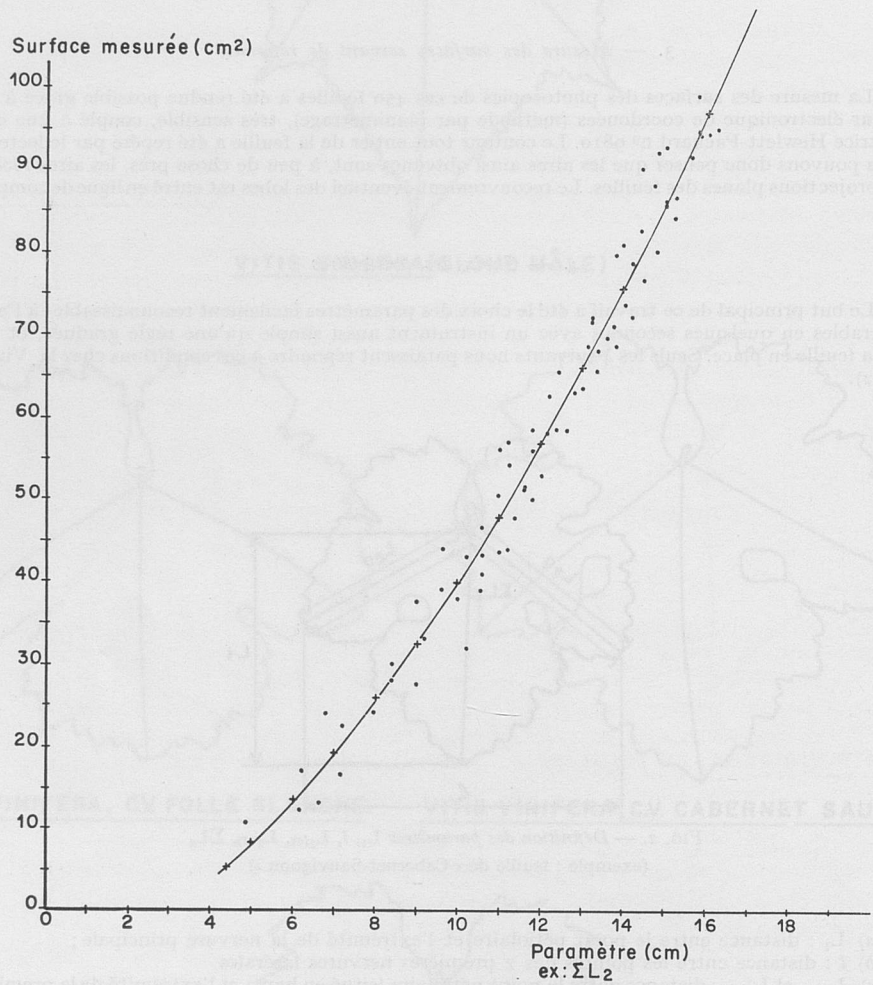


FIG. 3. — *Exemple de régression parabolique sur « Cabernet-Sauvignon » entre la surface mesurée en ordonnée et un paramètre linéaire* (Σ L_2) *en abscisse.* Le resserrement du nuage de points (ici essai avec 75 points) autour de la parabole reflète un R_m élevé, donc une bonne précision de l'ajustement. L'équation de la parabole est ici : $y = -6{,}885 + 1{,}605\ x + 0{,}305\ x^2$.

Nous avons également déterminé le coefficient de corrélation (r) entre chacun des 4 paramètres et la surface foliaire réelle ainsi que le coefficient de corrélation multiple (R_m) entre les surfaces mesurées (A) et les divers termes (a_0, a_1x et a_2x^2) de l'équation parabolique, estimant donc la liaison entre A et les surfaces théoriques (y) définies au moyen de cette parabole.

Le R^2_m traduit, au niveau de la variation totale représentée par les aires réelles des 50 feuilles de l'échantillon, la part qui est due aux aires estimées au moyen de la parabole et correspondant au paramètre mesuré. C'est plus simplement la précision de l'échelle de surface ainsi obtenue. La valeur « 1 — R^2_m représente donc l'erreur que l'on commet en adoptant l'aire fournie par la parabole et correspondant à la valeur du paramètre utilisé.

Pour ces calculs, nous avons utilisé un programme de régressions polynomiales enregistré sur appareil Hewlett-Packard nº 9830 A.

6. — *Discussion sur l'erreur*

Notons que l'erreur « 1 — R_m^2 » inclut, non seulement l'erreur due à la méthode elle-même, mais aussi celle qui est imputable à la mesure propre du paramètre. Elle ne tient pas compte de celle provenant du lecteur électronique ou des photocopies mais, au cours de notre travail, nous avons pu vérifier que cette dernière est négligeable vis-à-vis de « 1 — R_m ».

Remarquons aussi que les populations de surfaces et de paramètres ainsi constituées se sont avérées correspondre au modèle gaussien (normalité admissible au seuil de 5 p. 100).

Le but est donc de trouver le paramètre simple (L_1, l, $L_{2(g)}$, ΣL_2) procurant, quelle que soit la variété, un $R_m^2 > 0{,}95$, puisque l'erreur maximale tolérée est de 5 p. 100.

Les résultats que nous présentons ont surtout une valeur relative. Nous proposons avant tout le choix d'une méthode. Si de telles techniques intéressent certains chercheurs, les échelles de surfaces nécessiteraient d'être établies pour le ou les cépages étudiés dans le milieu propre aux essais. En effet, il n'est pas impossible que la forme de la feuille puisse varier légèrement avec des climats très éloignés de celui du Bordelais et les différents clones d' une même variété. L'influence éventuelle de l'année sur les résultats ne semble pas notable compte tenu de la diversité des feuilles constituant l'échantillon.

Afin de faciliter l'élaboration des échelles de surface nous avons également recherché des procédés nécessitant moins de moyens techniques de calculs.

7. — *Description d'une méthode de mesure par « calibrage »*

Nous avons mis au point un autre type de technique sur « Cabernet-Sauvignon ». A partir du négatif d'une photographie d'une feuille caractéristique de cette variété, nous avons tiré 25 agrandissements différents, qui constituent une gamme de « calibres ».

Chaque calibre a été mesuré au lecteur de coordonnées. De sorte que, par superposition, nous pouvons dire qu'une feuille se situe entre 2 calibres et évaluer sa surface.

Nous avons effectué une série de mesures rapides en indiquant le chiffre du calibre le plus rapproché de la feuille ; puis une autre série par interpolation sommaire des surfaces du calibre supérieur et du calibre inférieur.

Ces techniques sont plus longues que la mesure d'une longueur, mais elles sont d'une très bonne précision (tabl. 1 et 2). Il faut remarquer que les calibres étant, en fait, les homothétiques d'une seule feuille, nous pouvons considérer, qu'à l'échelle d'une population de feuilles d'une variété de Vigne, chaque élément se comporte avec une bonne approximation comme un homothétique d'une feuille caractéristique de cette variété.

III. — ÉTUDE DES RELATIONS ENTRE LA SURFACE MESURÉE ET LES 4 PARAMÈTRES LINÉAIRES

1. — *Présentation des résultats*

L'ensemble des résultats est consigné dans le tableau 1. Pour chacun des 4 paramètres (L_1, l, $L_{2(g)}$, ΣL_2) et chacune des 9 variétés, nous fournissons les données suivantes, calculées à partir de 50 feuilles:

a) longueur moyenne du paramètre considéré (cm);
b) aire moyenne de la feuille de la variété (cm^2) ;
c) r = coefficient de corrélation entre chaque paramètre et la surface ;
d) R_m^2 = carré du coefficient de corrélation multiple entre chaque paramètre, la surface et les termes de la régression parabolique.

Il est à noter que toutes les régressions et corrélations sont significatives au seuil de 1 p. 100.

TABLEAU I

Résultats généraux

L_1, l, $L_{2(g)}$, ΣL_2 = moyenne sur 50 feuilles du paramètre considéré
A = aire mesurée moyenne sur 50 feuilles
r = coefficient de corrélation entre le paramètre considéré et A
R_m = coefficient de corrélation multiple pour le paramètre considéré, entre les divers termes de la parabole et A
erreur = 1 — R_m^2 (pour ΣL_2 uniquement)

	L_1				l				$L_{2(g)}$				ΣL_2				Erreur (%)
	$\overline{L_1}$	$\overline{A}$	$r(L_1/A)$	R_m^2	$\overline{l}$	$\overline{A}$	$r(l/A)$	R_m^2	$\overline{L_{2(g)}}$	$\overline{A}$	$r(L_{2(g)}/A)$	R_m^2	$\overline{\Sigma L_2}$	$\overline{A}$	$r(\Sigma L_2/A)$	R_m^2	
« Pinot noir »	7,77	85,65	0,976	0,963	10,56	85,65	0,940	0,885	6,58	85,65	0,980	0,970	12,97	85,65	0,944	0,987	1,3
« Folle blanche »	6,97	65,97	0,940	0,918	8,76	65,97	0,936	0,889	5,89	65,97	0,957	0,951	11,71	65,97	0,965	0,979	2,1
« Tannat »	8,34	104,89	0,966	0,942	11,69	104,89	0,961	0,947	7,20	104,89	0,951	0,930	14,47	104,89	0,965	0,959	4,1
« Grenache noir »	8,91	95,30	0,968	0,966	10,60	95,30	0,903	0,823	7,26	95,30	0,962	0,943	14,54	95,30	0,973	0,970	3,0
« Cot »	8,36	93,07	0,972	0,947	10,15	93,07	0,955	0,927	7,22	93,07	0,971	0,965	14,36	93,07	0,983	0,984	1,6
« Merlot noir »	8,85	105,17	0,975	0,954	10,30	105,17	0,946	0,895	7,62	105,17	0,975	0,961	15,13	105,17	0,984	0,986	1,4
Cinerea mâle	9,12	83,18	0,968	0,970	9,32	83,18	0,883	0,787	7,15	83,18	0,853	0,840	14,76	83,18	0,962	0,974	2,6
« Cabernet-Sauvignon »	7,00	58,45	0,970	0,947	8,89	58,45	0,909	0,866	5,99	58,45	0,971	0,965	11,95	58,45	0,976	0,972	2,8
Rupestris « du Lot »	6,77	42,64	0,971	0,967	5,07	42,64	0,952	0,923	5,80	42,64	0,978	0,972	11,69	42,64	0,982	0,989	1,1

2. — *Analyse des données*

L'analyse des données montre clairement que, seule la somme des nervures latérales ΣL_2, répond aux conditions définies au départ, à savoir : facilité de mesure et $R^2_m > 0{,}95$ pour toutes les variétés.

ΣL_2 est donc à la fois le paramètre le plus précis pour chacune des 9 variétés et le plus faible d'une variété à l'autre.

L'erreur maximale commise ici est de 4,1 p. 100, ce qui nous autorise à dire qu'étant donnée la diversité des types foliaires étudiés, cette méthode doit fournir la précision de 95 p. 100 pour la grande majorité des *Vitis*, et ce, pour des échantillons de feuilles englobant des tailles diverses et des dissymétries plus ou moins accusées.

Il faut enfin reconnaître que la méthode n'est applicable, en toute rigueur, qu'à des surfaces supérieures à 5 cm² environ, ce qui est d'ailleurs très faible.

3. — *Comparaison de différentes méthodes* (tabl. 2)

L'utilisation de la combinaison de 2 paramètres ($L_1 \times l$) ne présente aucun intérêt vis-à-vis de ΣL_2, car elle est moins précise (pour le « Cabernet-Sauvignon » : ΣL_2 donne 2,8 p. 100 d'erreur et « $L_1 \times l$ » : 3,3 p. 100) et plus longue (nécessité d'une table pour « $L_1 \times l$ » et lecture directe sur une règle étalonnée pour ΣL_2). La précision et la commodité fournies par ΣL_2 paraît nous dispenser d'études de combinaisons entre ΣL_2 et les 3 autres paramètres élémentaires.

Par contre, l'utilisation de la technique des « calibres » avec interpolation sommaire, quoique plus longue, procure une précision de 99 p. 100 sur « Cabernet-Sauvignon ». Elle pourrait être recommandée pour des essais physiologiques très fins, en conditions contrôlées.

TABLEAU 2

Comparaison de différentes méthodes sur « Cabernet-Sauvignon »

$b(x/A)$ = coefficient de régression linéaire entre la surface fournie par la méthode (x) et celle qui a été mesurée (A)

$r(x/A)$ = coefficient de corrélation entre x et A

« $L_1 \times l$ » = x_1			Méthode des « calibres » surface estimée = x_2			Méthode des « calibres » avec interpolation surface estimée = x_3		
$b(x_1/A)$	$r(x_1/A)$	$r^2(x_1/A)$	$b(x_2/A)$	$r(x_2/A)$	$r^2(x_2/A)$	$b(x_3/A)$	$r(x_3/A)$	$r^2(x_3/A)$
1,165	0,983	0,967	0,995	0,994	0,987	0,995	0,995	0,990

4. — *Conclusion*

D'une manière générale, il semble suffisant pour la plupart des essais sur Vigne, de mesurer ΣL_2 et de lire directement sur une règle étalonnée en cm² la surface correspondante.

IV. — INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS, AUTRE PRINCIPE D'ÉLABORATION D'UNE ÉCHELLE DE SURFACE

Après l'analyse des données il semble logique d'essayer de fournir une interprétation et de déterminer les facteurs caractéristiques de la surface foliaire.

1. — *Pourquoi* ΣL_2 *donne-t-il la meilleure corrélation avec la surface?*

Une première raison apparaît : ΣL_2 élimine l'effet de la dissymétrie assez fréquente des feuilles, ce que ne fait pas la mesure d'une seule nervure latérale.

Une deuxième explication peut être avancée : ΣL_2 constitue, semble-t-il, un paramètre corrélé à la fois avec la longueur de la feuille estimée par L_1 et sa largeur estimée par l.

ΣL_2 donne une indication plus juste de la surface globale de la feuille, faisant entrer en ligne de compte à la fois la dissymétrie, la longueur et la largeur. En un mot, ΣL_2 paraît être le paramètre le mieux corrélé avec l'ensemble des composantes de la surface d'une feuille. Ces remarques pourraient éventuellement dépasser le cadre du genre *Vitis*.

Nous allons maintenant analyser de plus près la nature des coefficients de la parabole reliant la surface à ΣL_2 et retrouver leur valeur par le calcul. Nous déterminerons les facteurs caractérisant la surface d'une feuille à partir de L_1, l, et ΣL_2 en particulier.

2. — *Schématisation d'une feuille de vigne*

Nous avons essayé de réduire la feuille de vigne à des figures géométriques les plus simples possibles : cercle, rectangle, triangle, association rectangle-triangle. C'est cette dernière formule qui a donné les meilleures corrélations avec les surfaces réelles sur l'ensemble des 9 variétés. Cette observation semblerait, du reste conférer au type foliaire « cunéiforme » une position centrale pour le genre *Vitis*.

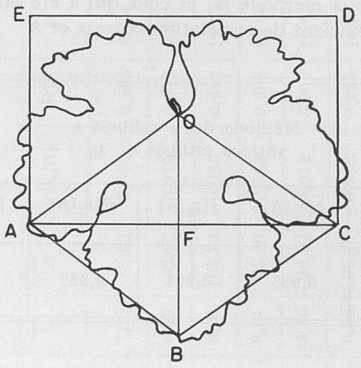


FIG. 4. — *Schématisation de la feuille de Vigne*
(exemple : feuille de « Cabernet-Sauvignon »)

O = point pétiolaire
(OB) = L_1
(AC) = l
(OA) = $L_{2(g)}$ = OC = $L_{2(d)}$
2 (OA) = ΣL_2
(EA) = L_1
(BF) = x

Ann. Amélior. Plantes, 1976, 26 (2), 327-343.

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE
I. N. R. A.
Centre de Recherches de RENNES
STATION D'AMÉLIORATION DES PLANTES
B.P. 29 - 35650 LE RHEU
Tél. : (99) 00.71.92

ERRATUM

PRINCIPES ET MÉTHODES DE MESURE DE LA SURFACE FOLIAIRE. ESSAI DE CARACTÉRISATION DES TYPES DE FEUILLES DANS LE GENRE *VITIS*

A. CARBONNEAU
avec la collaboration technique de C. BOUSSION

Station de Recherches de Viticulture,
Centre de Recherches de Bordeaux, I. N. R. A.,
33140 Pont-de-la-Maye

Page 337.

— *ligne 7 lire :*

(ACDE) (Aire = $L_1 \times l$) et à un triangle (ABC) (Aire = $l/2 \times x$), accolés.

au lieu de :

(ACDE) (Aire = $L_1 \times l$) et à un triangle (ABC) (Aire = $1/2 \times x$), accolés.

— *lignes 12 et 13 lire :*

$$A' = L_1 \times l + l/2\ (L_1 - 1/2\ \sqrt{4(L_2)^2 - l^2})$$
$$= 3/2\ (L_1 \times l) - l/4\ \sqrt{4(L_2)^2 - l^2}$$

au lieu de :

$$A' = L_1 \times l + 1/2\ (L_1 - 1/2\ \sqrt{4(L_2)^2 - l^2})$$
$$= 3/2\ (L_1 \times l) - 1/4\ \sqrt{4(L_2)^2 - l^2}$$

La figure 4 illustre cette schématisation. Il faut noter que pour des raisons de simplicité uniquement, nous avons assimilé la longueur (EA) à L_1, ce qui est grossièrement vérifié. Le seul intérêt de cette convention est de supprimer la mesure de (OE) qui est à peu de chose près la 3e nervure (L_3 de GALET). Cette dernière n'est en effet pas toujours bien facilement repérable.

La feuille supposée symétrique est donc assimilée très simplement à un rectangle (ACDE) (Aire $= L_1 \times l$) et à un triangle (ABC) (Aire $= 1/2 \times x$), accolés.

Exprimons la valeur de x en fonction de L_1, l, et L_2.

Dans le triangle (OAF), nous avons la relation :

$$(L_2)^2 = l^2/4 + (L_1 - x)^2 \rightarrow L_1 - x = 1/2\sqrt{4(L_2)^2 - l^2} \rightarrow x = L_1 - 1/2\sqrt{4(L_2)^2 - l^2}$$

L'aire totale de la feuille (ABCDE) est donc :

$$A' = L_1 \times l + 1/2\ (L_1 - 1/2\sqrt{4(L_2)^2 - l^2})$$
$$= 3/2\ (L_1 \times l) - 1/4\sqrt{4(L_2)^2 - l^2}$$

3. — *Définition des coefficients d'allongement et d'écartement des nervures*

Simplifions la relation parabolique qui existe entre A et L_2

$$[A = a_0 + a_1\ (\Sigma\ L_2) + a_2\ (\Sigma\ L_2)^2]$$

sous la forme : $A = b(\Sigma\ L_2)^2$. Nous allons tenter d'expliquer la nature du cofficient b et de retrouver sa valeur par le calcul.

Pour cela, reprenons la formule précédente et divisons-la par $(\Sigma\ L_2)^2$ égal ici à $4(L_2)^2$:

$$\frac{A'}{4(L_2)^2} = 3/2\left(\frac{L_1}{2L_2}\right) \times \left(\frac{l}{2L_2}\right) - 1/4\left(\frac{l}{2L_2}\right)\sqrt{1 - \left(\frac{l}{2L_2}\right)^2} = \lambda$$

Nous sommes donc en présence de 2 valeurs :

$$\frac{A}{(\Sigma\ L_2)^2} = b$$

qui est celle calculée à partir des aires réelles ;

$$\frac{A'}{(\Sigma\ L_2)^2} = \lambda$$

qui est obtenue à partir des aires fournies par le schéma de la feuille. Si λ n'est pas significativement différent de b, le schéma sera donc acceptable.

Revenons à l'expression de λ où apparaissent 2 coefficients sans dimension :

a) $\alpha = \dfrac{L_1}{2L_2} = \dfrac{L_1}{\Sigma\ L_2}$ = coefficient d'allongement de la « L_1 » par rapport aux 2 « L_2 » ;

b) $\beta = \dfrac{l}{2L_2} = \dfrac{l}{\Sigma\ L_2}$ = coefficient d'écartement entre la « L_1 » et les 2 « L_2 ».

La formule devient :

$$\lambda = \frac{A}{(\Sigma L_2)^2} = \frac{3}{2}\alpha\beta - \frac{1}{4}\beta\sqrt{1-\beta^2}$$

Ces coefficients α et β ont été calculés pour chacune des 9 variétés en faisant la moyenne de chaque paramètre linéaire sur l'ensemble des 50 feuilles de l'échantillon (tabl. 3).

4. — *Liaison entre b et λ*

Afin de voir si notre modèle est valable (autrement dit que λ est voisin de b), nous avons calculé pour les 9 variétés, la régression linéaire de la surface mesurée A sur $(\Sigma L_2)^2$. Le tableau 3 montre que les coefficients de corrélation (r') sont excellents : tous les r'^2 sont plus grands que 0,95. La comparaison avec le tableau 1 indique qu'une parabole simplifiée (du type : $y = bx^2$) donne une précision pratiquement égale à celle fournie par la formule : $y = a_0 + a_1x + a_2x^2$ (pour $x = \Sigma L_2$, du moins).

Le coefficient de régression $b = \frac{A}{(\Sigma L_2)^2}$ n'est quant à lui guère comparable à λ (tabl. 3). Ceci veut dire que notre schéma ne rend pas entièrement compte de la réalité. La surface de la feuille estimée par $\lambda (\Sigma L_2)^2$ est donc fausse. Il faut rappeler ici que cette remarque est encore plus vraie pour des modèles plus simples (cercle, rectangle, triangle). Mais, dans le cas présent, l'écart entre λ et b est d'autant plus grand que la feuille a un aspect découpé. Il apparaît donc la nécessité de faire intervenir dans l'expression de λ une estimation de la découpure.

5. — *Définition d'un coefficient de découpure*

Nous avons tout d'abord songé au paramètre défini par GALET, qui est la distance entre le point pétiolaire et le fond du sinus compris entre la « L_1 » et la « L_2 » : soit S_1, ou mieux « $S_{1(g)} + S_{1(d)}$ » nommé (ΣS_1) pour tenir compte de la dissymétrie (fig. 5). Les résultats obtenus ont montré que ce paramètre ainsi calculé, dans le cas qui nous occupe, surestime la découpure. Nous n'avons pu atténuer correctement cet effet en utilisant des transformés (Log en particulier) de ce paramètre.

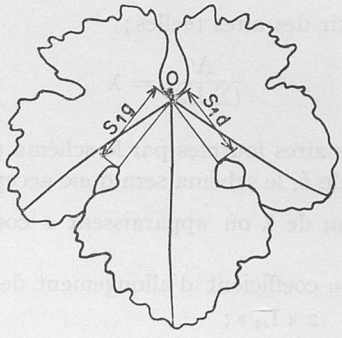


FIG. 5. — *Définition du paramètre S_1 de* GALET
(exemple : feuille de « Cabernet-Sauvignon »)

Nous avons adopté la définition suivante : la découpure d'une feuille de Vigne peut être évaluée par la somme des distances entre le point pétiolaire et le fond des 2 sinus compris entre la « L_1 » et les 2 « L_2 », mais le fond le plus éloigné du point pétiolaire (opposé à celui choisi par GALET) : soit ($\Sigma S'_1$). De ce fait la découpure se trouve atténuée. La figure 6 illustre les divers cas rencontrés. Elle montre en particulier que cette nouvelle estimation de la découpure élimine la petite perte de surface occasionnée par le sinus lui-même et ne tient compte que du contour continu de la feuille. Plusieurs cas peuvent se présenter ; pas de sinus apparent, sinus fermé (ici le fond le plus éloigné du point pétiolaire est facilement visible), sinus ouvert (dans ce cas le fond considéré est la tangente au niveau de l'ouverture).

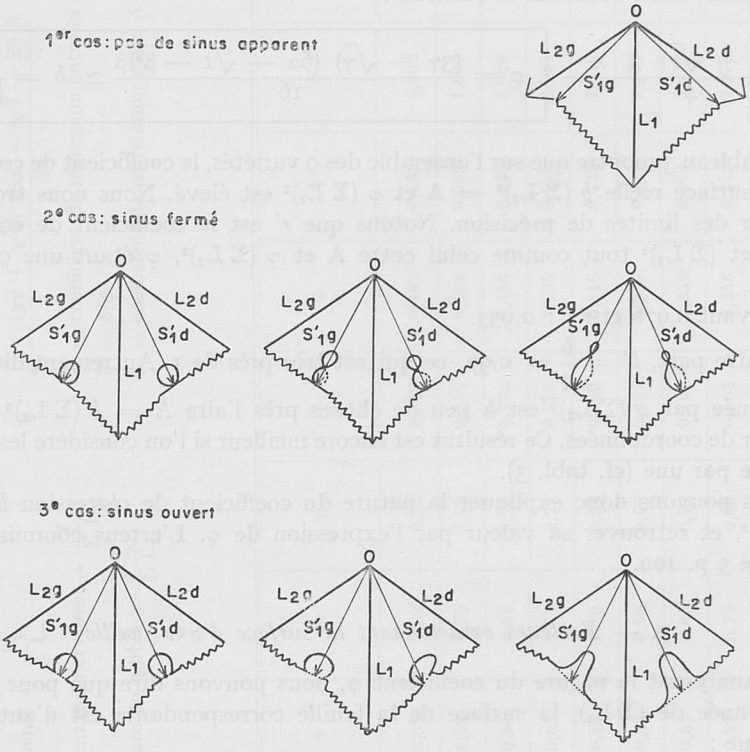


FIG. 6. — *Définition du paramètre S_1 dans divers schémas*
($\Sigma S' = S'_{1(g)} + S'_{1(d)}$)
1er cas : pas de sinus apparent
2e cas : sinus fermé
3e cas : sinus ouvert

A partir de ce paramètre, nous avons établi un coefficient inversement proportionnel à la découpure en divisant ($\Sigma S'_1$) par (ΣL_2) qui est notre paramètre de base, soit :

$$\gamma = \frac{(\Sigma S'_1)}{(\Sigma L_2)}$$

Moyennant ces conditions, le produit de λ par γ est très voisin de b, et ce, pour chacune des 9 variétés. Nous avons calculé un ajustement légèrement meilleur en utilisant des fonctions de γ (Log., $\sqrt{\ }$). Le meilleur résultat a été donné par :

$$\frac{3\gamma + \sqrt{\gamma}}{4} \qquad \text{(cf. tabl. 3)}$$

6. — *Expression du coefficient* φ *équivalent du coefficient* $b = \dfrac{A}{(\Sigma L_2)^2}$

Au total, nous obtenons la relation :

$$\varphi = \frac{(3\gamma + \sqrt{\gamma}) \times \lambda}{4} \Rightarrow \boxed{\varphi = \frac{(3\gamma + \sqrt{\gamma})\ (6\alpha - \sqrt{1 - \beta^2})\beta}{16} \simeq b = \frac{A}{(\Sigma L_2)^2}}$$

Le tableau 3 montre que sur l'ensemble des 9 variétés, le coefficient de corrélation entre la surface réelle $b\ (\Sigma L_2)^2 = A$ et $\varphi\ (\Sigma L_2)^2$ est élevé. Nous nous trouvons à l'intérieur des limites de précision. Notons que r' est le coefficient de corrélation entre A et $(\Sigma L_2)^2$ tout comme celui entre A et $\varphi\ (\Sigma L_2)^2$, φ étant une constante variétale.

r' : vaut 0,976 et r'^2 : 0,953.

D'autre part, $b' = \dfrac{b}{\varphi} = 0{,}97$, ce qui est très près de 1. Autrement dit, la surface estimée par $\varphi\ (\Sigma L_2)^2$ est à peu de choses près l'aire $A = b\ (\Sigma L_2)^2$ mesurée au lecteur de coordonnées. Ce résultat est encore meilleur si l'on considère les variétés prises une par une (cf. tabl. 3).

Nous pouvons donc expliquer la nature du coefficient de régression b liant A et $(\Sigma L_2)^2$, et retrouver sa valeur par l'expression de φ. L'erreur commise ici est voisine de 5 p. 100.

7. — *Facteurs caractérisant la surface d'une feuille*

En analysant la nature du coefficient φ, nous pouvons dire que pour une longueur donnée de (ΣL_2), la surface de la feuille correspondante est d'autant plus grande que :

a) α est plus grand : donc la feuille a un aspect relativement allongé ;
b) β est plus grand : donc la feuille a des nervures bien écartées ;
c) γ est plus grand : donc la feuille est peu découpée.

Ces considérations, du reste, semblent logiques puisque la valeur de α, β ou γ est directement liée à l'importance du limbe pour une (ΣL_2) donnée.

Notons que l'analyse du tableau 3 permet de constater que les facteurs déterminants en la matière sont β et γ.

φ est donc un coefficient caractéristique uniquement du type foliaire puisqu'il représente la surface de la feuille rapportée au carré de (ΣL_2) paramètre de base. φ constitue de ce fait un moyen de caractériser le type foliaire sous forme chiffrée.

TABLEAU 3

Coefficients variétaux

α (coefficient d'allongement) $= \dfrac{L_1}{\Sigma L_2}$

β (coefficient d'écartement des nervures) $= \dfrac{l}{\Sigma L_2}$

γ (coefficient de découpure du limbe) $= \dfrac{\Sigma S'_1}{\Sigma L_2}$

$\gamma = \dfrac{(6\alpha - \sqrt{l - \beta^2})\ \beta}{4}$

$\varphi = \dfrac{(3\gamma + \sqrt{\gamma})\ (6\alpha - \sqrt{l - \beta^2})\ \beta}{16}$

b = coefficient de régression entre la surface mesurée A et $(\Sigma L_2)^2$

$b' = b/\varphi$

r = coefficient de corrélation entre A et $\varphi\ (\Sigma L_2)^2$

Variété (50 f./Var.)	α	β	γ	λ	φ	b	b'	r'	r'^2	Erreur ou $l - r'^2$ (%)
« Pinot noir »	0,59	0,80	0,76	0,828	0,482	0,483	1,002	0,996	0,992	0,8
« Folle blanche »	0,59	0,75	0,59	0,854	0,459	0,459	1,000	0,989	0,978	2,2
« Tannat »	0,59	0,81	0,71	0,783	0,456	0,468	1,026	0,979	0,958	4,2
« Grenache noir »	0,62	0,74	0,79	0,771	0,434	0,446	1,027	0,986	0,972	2,8
« Cot »	0,58	0,70	0,81	0,860	0,416	0,423	1,016	0,991	0,983	1,7
« Merlot noir »	0,59	0,68	0,48	0,831	0,388	0,377	0,972	0,993	0,985	1,5
« *Cinerea* mâle »	0,61	0,63	0,72	0,794	0,359	0,368	1,027	0,985	0,970	3,0
« Cabernet-Sauvignon »	0,59	0,75	0,46	0,662	0,356	0,348	0,976	0,986	0,972	2,8
« *Rupestris* du Lot »	0,58	0,44	0,85	0,983	0,278	0,278	1,000	0,994	0,988	1,2
TOTAL							0,970	0,976	0,953	4,7

Ce coefficient, synthèse de l'allongement de la feuille, de l'écartement des nervures et de la découpure pourrait éventuellement présenter un intérêt pour des ampélographes. Dans cette optique, la formule de φ qui a été établie sur l'ensemble des types foliaires du genre *Vitis* et sur 450 feuilles de tailles diverses, devrait être appliquée à la totalité des cépages intéressants, dans des milieux variés, afin de noter son pouvoir discriminant.

8. — *Problème inverse : connaissant* φ, *établir une échelle de surface en fonction de* (ΣL_2)

Ayant obtenu des résultats relativement précis, pour des types de feuilles très variés, nous pouvons maintenant, en nous fiant à ces coefficients de corrélation et de régression, retrouver avec la même précision la surface d'une feuille à partir de la mesure de paramètres simples : L_1, l, (ΣL_2), (ΣS_1). La meilleure garantie de la précision espérée repose sur le fait que φ a été établi sur l'ensemble des types foliaires chez la Vigne, qui sont du reste très différents.

L'intérêt réside dans le fait qu'en prenant 50 à 100 feuilles sur la variété étudiée, avec un simple double décimètre, il est assez facile de déterminer ces 4 paramètres ; ensuite de calculer φ pour l'ensemble des feuilles de la variété en ayant la moyenne sur ces 4 paramètres. Le tracé de la parabole $y = \varphi (\Sigma L_2)^2$ permet d'étalonner une règle en donnant directement la surface de la feuille en fonction de (ΣL_2).

La précision espérée est de l'ordre de 95 p. 100, un peu moins bonne certes que celle fournie par une parabole du type : $y = a_0 + a_1 x + a_2 x^2$, déterminée à partir de mesures de surface par lecteur de coordonnées ou planimètre. Néanmoins, cette méthode reste précise, commode et réalisable avec des moyens réduits.

V. — CONCLUSION

La mesure de la surface d'une feuille de vigne peut donc être réalisée de façon simple, rapide et précise (moins de 5 p. 100 d'erreur) en utilisant (ΣL_2) comme paramètre de référence. Cette méthode est valable pour le genre *Vitis*, et pourrait éventuellement être étendue à d'autres plantes.

L'étalonnage d'une règle donnant la surface foliaire en fonction de (ΣL_2) peu se faire, soit en calculant pour une variété donnée dans le milieu considéré, le paramètre φ précédemment défini ; soit de façon plus exacte en mesurant par des moyens perfectionnés les surfaces d'un échantilllon de 50 à 100 feuilles.

Si l'importance de l'erreur doit avoisiner 1 p. 100 et si les contraintes de rapidité sont moins impératives, la méthode par « calibrage » avec interpolation sommaire est recommandable.

Il faut également souligner l'intérêt du coefficient φ dans la caractérisation du type foliaire et la compréhension des facteurs conditionnant la valeur de la surface, à ΣL_2 égales.

En fonction de ces résultats, notre travail dans ce domaine, s'oriente vers l'estimation, aussi précise que possible, de la surface foliaire d'un rameau ou d'un cep, ce qui impose la résolution de problèmes d'échantillonnages.

Reçu pour publication en juillet 1975.

REMERCIEMENTS

Nous adressons nos remerciements au Directeur et au responsable de la Section Informatique du C.E.T.E.G.R.E.F. de GAZINET pour leur collaboration et leur autorisation d'utiliser le lecteur électronique de coordonnées et la calculatrice Hewlett-Packard n° 9810.

SUMMARY

PRINCIPLES AND METHODS FOR MEASURING LEAF AREA.
ATTEMPT TO DEFINE THE VARIOUS TYPES OF LEAVES IN *VITIS* GENUS

Different principles and methods for measuring easily, rapidly and precisely leaf area in *Vitis* genus are studied. The most interesting result (with an error inferior to 5 p. 100) is obtained by calculating the sum of the lengths of the two first lateral veins (ΣL_2) which shows a good correlation with the actual area. Another technique based on sizing which is a little more accurate might also be of interest.

An attempt to interpret the results and to schematize vine leaf is made. It was thus possible to define a coefficient φ characterizing the leaf type and explaining with an error to 5 p. 100 the relation between $(\Sigma L_2)^2$ and the actual area. φ is obtained by measuring the leaf length, width and denticulation reduced to ΣL_2, which is sufficient for working out an area scale as a function of ΣL_2.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BAJESCU N., POENARU I., CORBEANU S., 1957. Établissement d'une méthode graphique pour déterminer la surface des feuilles de Vigne. *Buletin stiintific, Sectia de Biologie si Stiinte agricole* (serie agronomie), Academia republicii populare romine, **9**, 329-349.

BLAHA J., 1966. Les observations de la surface foliaire chez les différents systèmes de taille de la Vigne. (Al. fr.). *Mitt. Klosterneuburg*, **16** (1), 13-18.

BURTON R. F., 1960. The mathematical relationship between the lengths of lateral nerves and their positions on a leaf. *New Phytol.*, **59** (1), 48-52.

CONIBEAR D. I., FURMIDGE C. G. L., 1960. A simple photo-electric device for measuring the areas of detached leaves. *Ann. Rept. Agric. Res. Sta., Long Ashton*, 66-68.

FREEMAN G. H., BOLAS B. D., 1955. A method for the rapid determination of leaf areas in the field. *Rep., East. Malling Res. Stat.*, 104-107.

GALET P., 1971. *Précis d'ampélographie pratique*, DEHAN P. (Éd.), Montpellier, 266 p.

HEGEDUS A., 1963. La mesure de la surface foliaire de la Vigne. (Ho. fr.). *Szolesz. Kut. Intez. Evkon.*, **12**, 171-181.

HEINICKE D. R., 1963. Note on estimation of leaf area and leaf distribution in fruit trees. *Can. J. Plant Sci.*, **43**, 597-598.

HUMPHRIES E. C., FRENCH S. A. W., 1963. The accuracy of the rating method for determining leaf area. *Ann. appl. Biol.*, **52**, 193-198.

KVET J., MARSHALL J. K., 1971. Assessment of leaf area and other assimilating plant surfaces, p. 517-555. *In* : SESTAK Z., CATSKY J., JARVIS P. G. (Eds). *Plant photosynthetic production, manual of methods*. Junk. The Hague, 818 p.

MANIVEL L., WEAVER J., 1974. Biometric correlations between leaf area and length measurements of « Grenache » grape leaves. *Hortscience* **9** (1), 27-28.

MELVILLE R., 1960. A metrical study of leaf-shape in hybrids. I. The leaf-shape of some F_1 hybrids and their parents. *Kew Bull.*, **14** (1), 88-102.

TURKOVIC Z., 1966. Sur l'évaluation de la surface d'assimilation des feuilles de vigne (Al. fr). *Mitt. Klosterneuburg.*, **16** (1), 6-12.

VOISEY P. W., KLOEK M., 1964. A possible leaf area measuring instrument. *Can. J. Plant Sci.*, **44**, 389-391.

WILSON J. W., 1965. Point quadrat analysis of foliage distribution for plants growing singly or in rows *Aust. J. Bot.*, **13** (3), 405-409.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (2), 345-355.

APPORT DE L'ÉLECTROPHORÈSE EN COURANT PULSÉ A LA TAXONOMIE D'*ECHINOCHLOA CRUS GALLI* (L.) PB.

J. GASQUEZ et J. P. COMPOINT

Laboratoire de Malherbologie,
Centre de Recherches de Dijon, I. N. R. A.,
B.V. 1540, 21034 Dijon Cedex

RÉSUMÉ

Pour étudier avec plus de précision la différenciation infraspécifique chez la mauvaise herbe *Echinochloa crus galli* (L.) PB., les auteurs ont utilisé une technique d'électrophorèse fondée sur l'application du courant pulsé. La comparaison des protéinogrammes par l'analyse factorielle des correspondances a permis d'individualiser des groupes de populations en relation avec l'écologie de leur milieu d'origine (rizière, lieux humides incultes, maïs sur sols sableux, maïs sur sols argileux, autres cultures) et de conclure à l'existence d'une différenciation génétique en fonction de l'eau dans le sol et surtout en fonction de l'application répétée du même herbicide (atrazine) dans une monoculture (maïs).

Les *Echinochloa* et particulièrement l'espèce *E. crus galli* (L.) PB. sont des mauvaises herbes parmi les plus répandues et les plus nuisibles dans le monde (Leroy *et al.*, 1970). C'est l'abondance et la très large répartition géographique et écologique d'*E. crus galli* qui nous ont amenés à entreprendre une étude taxonomique sur cette espèce.

De plus, dans les zones de monoculture du maïs, il est apparu que l'efficacité des triazines tendait à diminuer d'année en année. Nous avons tenté de mettre en évidence d'éventuelles variations entre les populations provenant des champs de maïs et celles d'origine différente.

Parmi les différentes méthodes que nous avons utilisées, l'étude de la morpho-

logie et la caryologie n'ont pas fourni d'éléments de réponse. Seules des études d'écophysiologie ont montré des différences de comportement entre les populations vis-à-vis de l'eau du sol, et surtout de l'atrazine dans le sol (GASQUEZ et COMPOINT, 1973 *b*). Cependant, pour éprouver la validité de ces résultats, nous avons recherché l'existence de caractères plus proches du génome traduisant des différences génétiques infra-spécifiques.

Ainsi, la séparation par électrophorèse des protéines solubles des caryopses nous a déjà donné des résultats encourageants (GASQUEZ et COMPOINT, 1973 *a*). Néanmoins, nous avons voulu rechercher une technique de séparation électrophorétique plus fine bénéficiant des avantages du courant pulsé utilisé en électrofocalisation (FRELIN et GASQUEZ, 1973).

Dans un premier temps, nous avons comparé sur le même matériel les résultats obtenus par cette technique avec ceux obtenus précédemment. Puis, nous avons étudié une nouvelle série de populations que nous avons comparées par l'analyse factorielle des correspondances déjà plusieurs fois utilisée (en particulier GASQUEZ, 1971) et dont les principes et les applications à la taxonomie et à la phytosociologie ont été développés par BENZECRI *et al.* (1973).

I. — DESCRIPTION DE LA TECHNIQUE UTILISÉE

1. — *Préparation des échantillons et des gels de polyacrylamide*

Les échantillons de protéines sont obtenus selon le protocole que nous avons déjà utilisé dans le travail de référence : 1 g de caryopses décortiqués est broyé au broyeur à billes, puis placé pendant 1/2 h dans 1,5 ml de tampon *Tris*-HCl pH 8 avec 0,2 p. 100 de β-mercaptoéthanol. Enfin, le tout est centrifugé pendant 40 mn à 40 000 *g*, après quoi on récupère le surnageant qui peut être conservé au congélateur et qui constitue l'échantillon définitif.

Les gels de polyacrylamide sont préparés selon la technique d'ORNSTEIN (1964) et de DAVIS (1964). L'appareil que nous utilisons (Ortec 4100) permet de préparer, au lieu des tubes de gels de DAVIS (1964), deux cellules (fig. 1) contenant chacune une plaque de gel de 10 cm de largeur, 9 cm de hauteur et 4 mm d'épaisseur. Celle-ci permet la migration simultanée de 8 à 12 échantillons. Dans chaque cellule, les gels (fig. 1) sont constitués de bas en haut par :

— un gel de séparation à 8 p. 100 d'acrylamide (gel fin) ;
— un gel de concentration à 2,5 p. 100 d'acrylamide (gel large) ;
— des parois de gel à 8 p. 100 d'acrylamide pour séparer les échantillons, ceux-ci sont placés dans les espaces ainsi délimités ;
— un gel de recouvrement à 8 p. 100 d'acrylamide.

Toutes les concentrations sont identiques à celles de la technique de DAVIS, seule la concentration du gel de séparation est modifiée et a été fixée à 8 au lieu de 10 p. 100 pour faciliter le démoulage des gels.

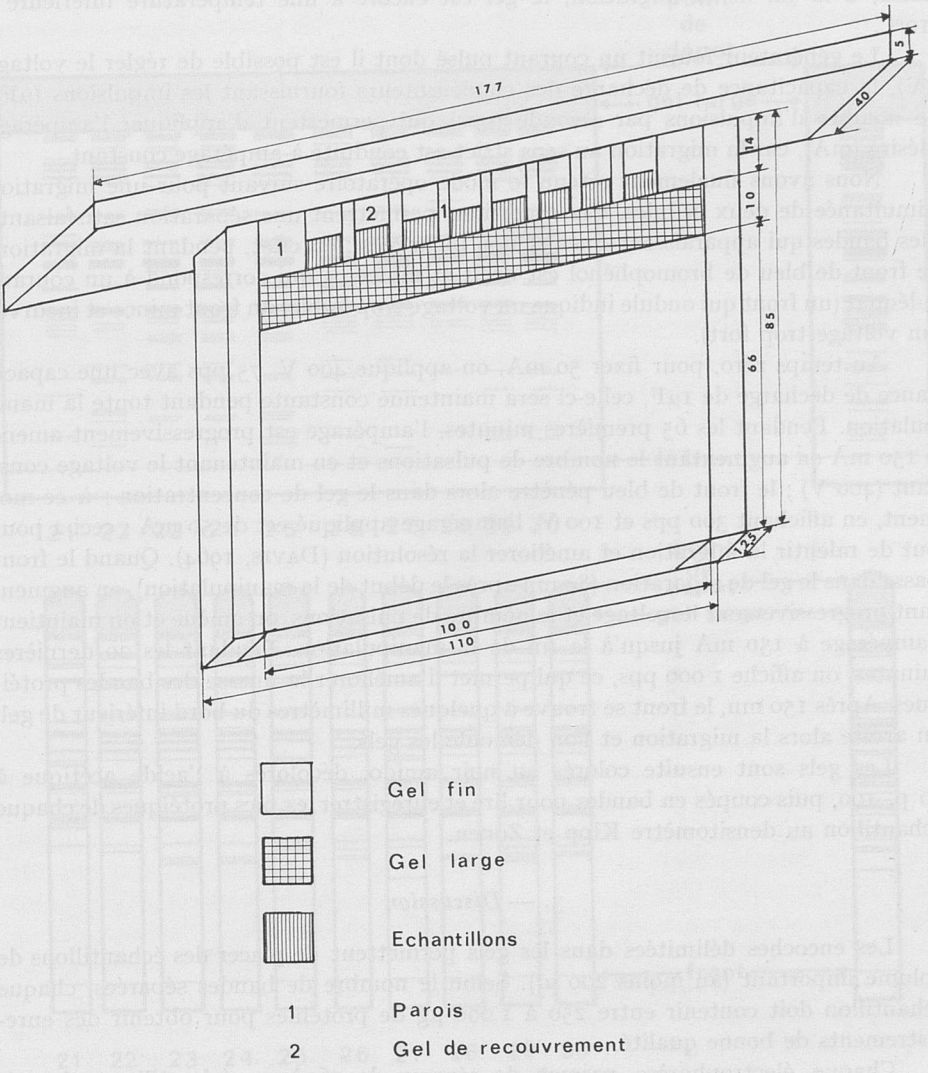


FIG. 1. — *Représentation schématique d'une cellule de migration montrant la disposition des différents gels*

2. — *Migration et lecture des gels*

Après polymérisation complète, les cellules sont mises en place verticalement entre deux réservoirs contenant du tampon *tris*-glycine à pH 8,3. La migration s'effectue de haut en bas. Pour matérialiser le front de migration, un peu de bleu de bromophénol est ajouté dans le compartiment supérieur, celui de la cathode. Le tampon est utilisé à la température de conservation, environ 4°C, et l'électrophorèse qui est conduite à la température du laboratoire, dure 2 h 30. Il n'est pas nécessaire de réfrigérer l'ensemble, car le courant pulsé n'entraîne pas d'échauffement notable ;

ainsi, à la fin de la migration, le gel est encore à une température inférieure à 10°C.

Le générateur fournit un courant pulsé dont il est possible de régler le voltage (V), la capacitance de décharge des condensateurs fournissant les impulsions (μF), le nombre d'impulsions par seconde (pps) qui permettent d'appliquer l'ampérage désiré (mA), car la migration au sens strict est conduite à ampérage constant.

Nous avons finalement retenu le mode opératoire suivant pour une migration simultanée de deux cellules. Ces conditions permettent une séparation satisfaisante des bandes qui apparaissent fines et non incurvées : en effet, pendant la migration, le front de bleu de bromophénol est droit et mince ce qui correspond à un courant adéquat (un front qui ondule indique un voltage trop faible, un front mince et incurvé, un voltage trop fort).

Au temps zéro, pour fixer 50 mA, on applique 400 V, 75 pps avec une capacitance de décharge de 1μF, celle-ci sera maintenue constante pendant toute la manipulation. Pendant les 65 premières minutes, l'ampérage est progressivement amené à 150 mA en augmentant le nombre de pulsations et en maintenant le voltage constant (400 V) ; le front de bleu pénètre alors dans le gel de concentration ; à ce moment, en affichant 300 pps et 100 V, l'ampérage appliqué est de 50 mA : ceci a pour but de ralentir la migration et améliorer la résolution (Davis, 1964). Quand le front passe dans le gel de séparation (80 mn après le début de la manipulation), en augmentant progressivement le voltage et le nombre de pulsations, on amène et on maintient l'ampérage à 150 mA jusqu'à la fin de la manipulation. Pendant les 20 dernières minutes, on affiche 1 000 pps, ce qui permet d'améliorer la finesse des bandes protéiques. Après 150 mn, le front se trouve à quelques millimètres du bord inférieur de gel on arrête alors la migration et l'on démoule les gels.

Les gels sont ensuite colorés au noir amido, décolorés à l'acide acétique à 10 p. 100, puis coupés en bandes pour lire et enregistrer les pics protéiques de chaque échantillon au densitomètre Kipp et Zonen.

3. — *Discussion*

Les encoches délimitées dans les gels permettent de placer des échantillons de volume important (au moins 200 μl). Selon le nombre de bandes séparées, chaque échantillon doit contenir entre 250 à 1 000 μg de protéines pour obtenir des enregistrements de bonne qualité.

Chaque électrophorèse permet de séparer de 16 à 24 échantillons répartis en deux plaques de gel, ce qui facilite la comparaison par observation directe et assure des conditions de migration semblables. La lecture au densitomètre est facilitée et plus répétitive par rapport aux gels en tube, car le faisceau lumineux traverse une plaque à bords parallèles au lieu d'un cylindre.

Cette technique est fondée sur le même principe que celle d'Ornstein (1964), celui du système de tampon discontinu établi grâce à une discontinuité de pH entre le tampon de migration, le gel large et le gel fin. Cependant, par rapport à la technique développée par Davis (1964) initialement utilisée (Gasquez et Compoint, 1973 *a*), l'appareil Ortec permet de remplacer les tubes par des plaques utilisées dans les mêmes conditions. Mais surtout, l'utilisation du courant pulsé, en réduisant l'effet Joule, permet d'appliquer des voltages très importants. Cette

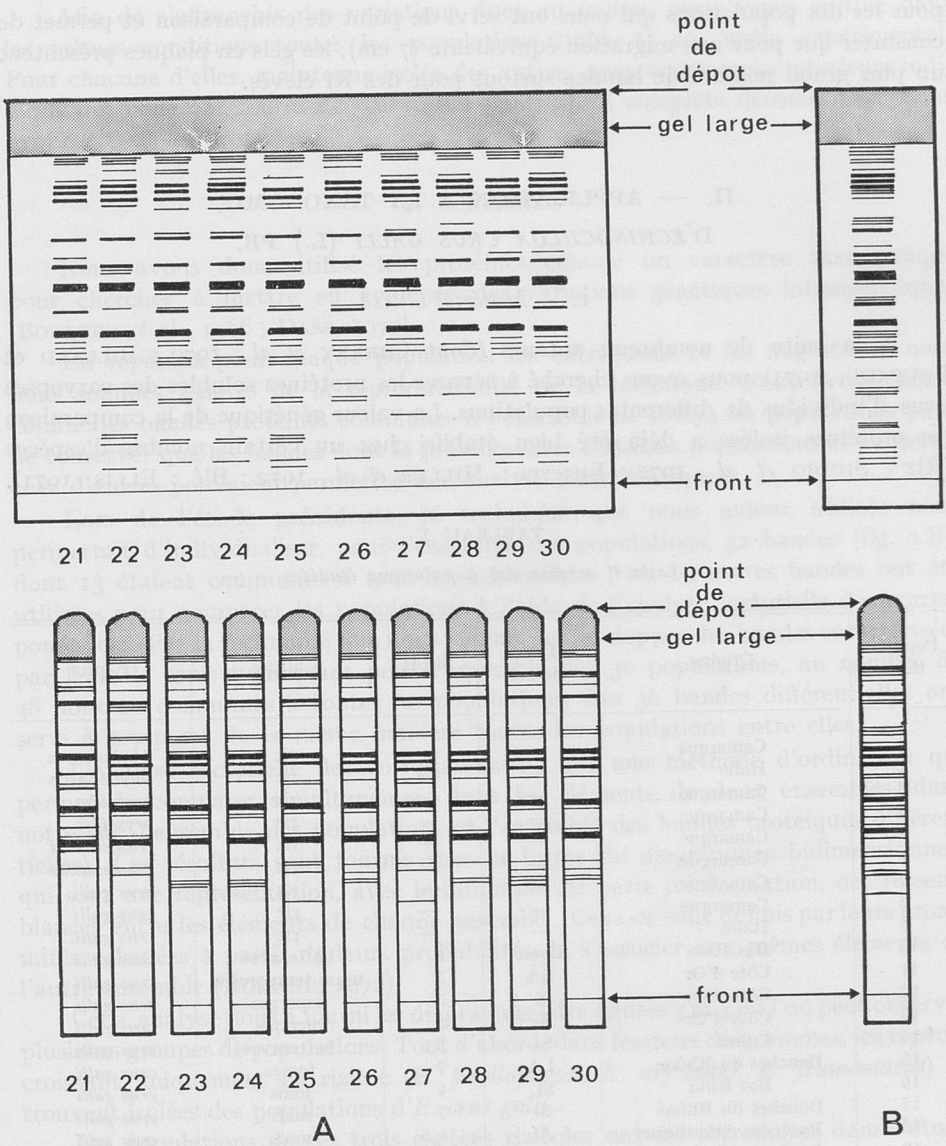


FIG. 2

A : *Comparaison des protéinogrammes des extraits de 10 populations, obtenus par une électrophorèse en courant pulsé* (haut) *et par une électrophorèse en tube* (bas).
B : *Protéinogrammes complets théoriques :*

— en haut après une électrophorèse en courant pulsé (48 bandes) ;
— en bas après une électrophorèse en tube (32 bandes).

caractéristique technique augmente le pouvoir de résolution et diminue le temps de migration. De plus, il est possible d'effectuer la manipulation à température ordinaire sans risque d'élévation de la température en utilisant simplement un tampon froid.

Enfin, la figure 2 A montre les résultats obtenus avec les deux techniques

pour les dix populations qui nous ont servi de point de comparaison et permet de constater que pour une migration équivalente (7 cm), les gels en plaques présentent un plus grand nombre de bandes surtout pour des Rf élevés.

II. — APPLICATION A LA TAXONOMIE D'*ECHINOCHLOA CRUS GALLI* (L.) PB.

1. — *Matériel utilisé*

A la suite de nombreux auteurs (dont CHERRY *et al.*, 1970 ; BILLARD et BOUCAUD, 1971) nous avons cherché à séparer les protéines solubles des caryopses issus d'individus de différentes populations. La valeur génétique de la comparaison des protéines isolées a déjà été bien établie chez un certain nombre d'espèces (Riz : SIDDIQ *et al.*, 1972 ; Luzerne : MILLER *et al.*, 1972 ; Blé : ELLIS, 1971).

TABLEAU I

Liste et origine des populations étudiées

Populations	Origine	Type de sol	Sl pH	Culture	Espèce
1	Camargue	—	—	riz	*phyllopogon*
2	Italie	—	—	riz	*phyllopogon*
3	Camargue	—	—	riz	*oryzoides*
4	Camargue	—	—	riz	*oryzoides*
5	Camargue	—	—	riz	*frumentacea*
6	Camargue	—	—	riz	*frumentacea*
7	Camargue	—	—	riz	*crus galli*
8	Camargue	—	—	riz	*crus galli*
9	Italie	—	—	riz	*crus galli*
10	Bas Rhin	Loess	8	betteraves	*crus galli*
11	Côte d'Or	SA	5	mare temporaire	*crus galli*
12	Côte d'Or	S	5	asperges	*crus galli*
13	Côte d'Or	Sa	5	oignons	*crus galli*
14	Loiret	Sa	5,5	betteraves	*crus galli*
15	Bouches du Rhône	LA	7	fossés	*crus galli*
16	Bas Rhin	SL	4	maïs	*crus galli*
17	Bouches du Rhône	Sl	7	maïs	*crus galli*
18	Pyrénées Atlantiques	Al	4,5	maïs	*crus galli*
19	Pyrénées Atlantiques	Humi.	4,5	maïs	*crus galli*
20	Vienne	Sa	6,5	maïs	*crus galli*
21	Camargue	—	—	riz	*crus galli*
22	Nièvre	Sa	5,5	fossés	*crus galli*
23	Lot	Alluvions	6,5	maïs	*crus galli*
24	Bas Rhin	Alluvions	6,5	maïs	*crus galli*
25	Loiret	Ls	5	maïs	*crus galli*
26	Gers	A	4,5	maïs	*crus galli*
27	Bas Rhin	Humi.	5,5	maïs	*crus galli*
28	Vienne	Al	5,5	maïs	*crus galli*
29	Hautes Pyrénées	A	5,5	maïs	*crus galli*
30	Hautes Pyrénées	A	4,5	maïs	*crus galli*

Afin de s'affranchir des variations dues au milieu, nous avons cultivé dans les mêmes conditions toutes les populations (tabl. 1) au jardin expérimental. Pour chacune d'elles, maintenue isolée des autres, nous avons croisé plusieurs individus qui nous ont fourni des caryopses dont, après complète décortication, nous avons extrait les protéines.

2. — *Résultats*

Nous avons donc utilisé les protéines comme un caractère taxonomique pour chercher à mettre en évidence des variations génétiques infraspécifiques (BOULTER *et al.*, 1966 ; DASS, 1972).

En répétant pour chaque population les extractions et les migrations, nous nous sommes assurés de la reproductibilité de la technique. Nous avons, ainsi, éliminé les bandes protéines communes à l'ensemble de toutes les populations pour ne conserver que les bandes dont la présence chez certaines populations et l'absence chez d'autres pouvaient permettre une analyse mathématique.

Lors de l'étude précédente, la technique que nous avions utilisée nous permettait d'individualiser, pour l'ensemble des populations, 32 bandes (fig. 2 B), dont 13 étaient communes à tous les échantillons ; les 19 autres bandes ont été utilisées pour comparer les populations à l'aide de l'analyse factorielle des correspondances. Par la technique que nous venons de développer, les bandes caractérisées par leur Rf sont maintenant pour l'ensemble des 30 populations, au nombre de 48 dont 12 communes à toutes les populations. Les 36 bandes différencielles ont servi à comparer de la même manière toutes les populations entre elles.

L'analyse factorielle des correspondances est une méthode d'ordination qui permet de comparer simultanément tous les éléments de deux ensembles (dans notre cas, l'ensemble des populations et l'ensemble des bandes protéiques différentielles). Les résultats sont fournis sous la forme de diagrammes bidimensionnels qui sont une représentation, avec le minimum de perte d'information, des ressemblances entre les éléments de chaque ensemble. Ceux-ci sont définis par leurs proximités calculées à partir de leurs probabilités de s'associer aux mêmes éléments de l'autre ensemble (ROMANE, 1972).

Cette analyse nous a fourni les diagrammes des figures 3 et 4 où l'on peut observer plusieurs groupes de populations. Tout d'abord, dans les deux diagrammes, les espèces croissant uniquement en rizière (*E. phyllopogon*, *E. oryzoides*, *E. frumentacea*) se trouvent isolées des populations d'*E. crus galli*.

Les populations de ces trois espèces rizicoles ont été introduites dans l'étude pour situer par rapport à elles les populations d'*E. crus galli* issues de rizière.

Parmi les populations d'*E. crus galli*, le diagramme selon les axes 1 et 3 (fig. 4) permet de distinguer plusieurs groupes formés des populations :

— 7, 8, 9, 21 issues de rizières ;
— 11,15, 22 issues de lieux humides incultes ;
— 12, 13, 14 issues de cultures autres que le maïs ;
— 10 issue d'une culture de betteraves qui est très difficile à classer car elle est la seule dans ce type de culture à provenir d'un sol de loess basique ;
— toutes les autres populations proviennent de champs de maïs et se trouvent

isolées des autres groupes. Il est possible de séparer parmi elles celles qui proviennent de sols alluviaux légers de celles qui proviennent de sols lourds argileux.

La comparaison des diagrammes des figures 3 et 4 et du tableau 1 permet de remarquer que les populations sont classées le long de l'axe 1 selon un gradient d'humidité : toutes les populations de rizières ont une valeur positive, puis viennent celles des lieux humides incultes et enfin, avec à peu près la même valeur, celles des cultures. L'axe 2 n'est discriminant que pour les populations issues de rizières ; les populations d'*E. oryzoides* ont une valeur positive, puis vers l'origine celles d'*E. frumentacea* enfin celles de *E. phyllopogon*. L'axe 3 permet d'ordonner les populations d'*E. crus galli* en fonction d'un facteur qui représenterait une combinaison du pH et de la texture du sol.

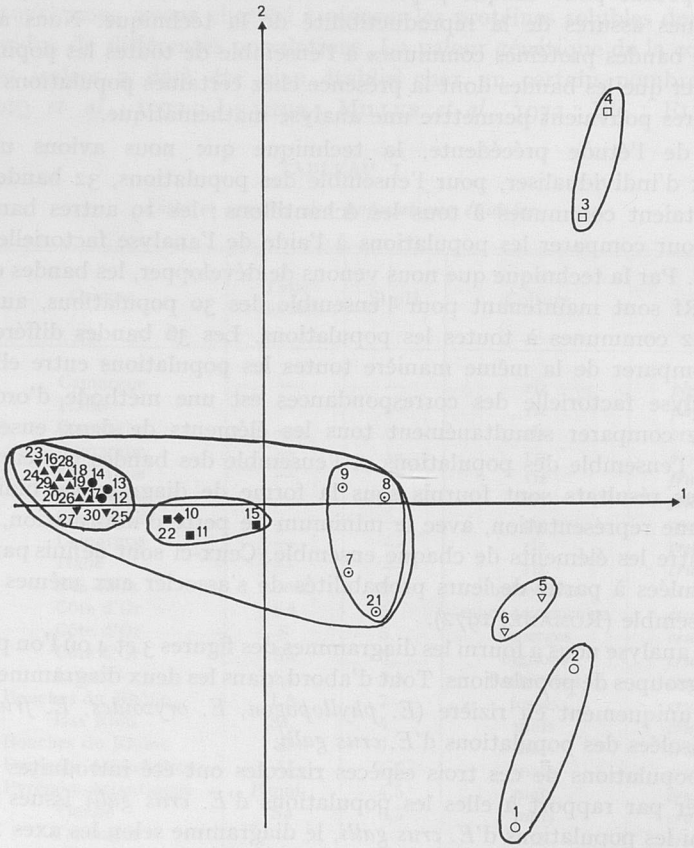


FIG. 3. — *Diagramme de l'analyse factorielle des correspondances représentant les populations en fonction des axes 1 et 2*

○ *Echinochloa phyllopogon*
□ *Echinochloa oryzoides*
△ *Echinochloa frumentacea*

Echinochloa crus galli
⊙ de rizières
■ de lieux incultes humides
▼ de maïs sur sols légers
▲ de maïs sur sols argileux
● d'autres cultures

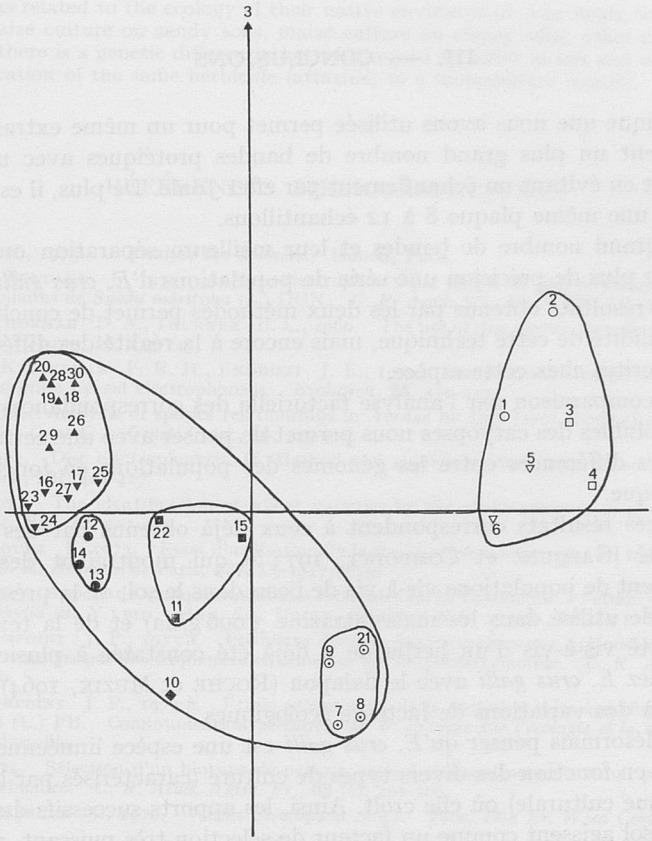


FIG. 4. — *Diagramme de l'analyse factorielle des correspondances représentant les populations en fonction des axes 1 et 3*
(pour les symboles, voir la légende de la figure 3)

Nous avons ainsi pu dégager parmi les populations d'*E. crus galli* plusieurs groupes de populations en fonction de leur origine écologique :

- — populations de rizière
- — populations de lieux non inondés
  - — lieux incultes humides
  - — cultures sauf maïs
  - — maïs
    - sols légers alluviaux
    - sols lourds argileux

Les populations que nous avions déjà utilisées dans le travail de référence (populations 21 à 30) se trouvent classées de la même façon que lors de la première étude et occupent des positions correspondant à leur écologie. Ceci semble confirmer la validité de la technique que nous avons cherché à développer.

III. — CONCLUSIONS

La technique que nous avons utilisée permet pour un même extrait de séparer plus rapidement un plus grand nombre de bandes protéiques avec un ampérage plus élevé tout en évitant un échauffement par effet Joule. De plus, il est possible de comparer sur une même plaque 8 à 12 échantillons.

Le plus grand nombre de bandes et leur meilleure séparation ont permis de comparer avec plus de précision une série de populations d'*E. crus galli*. La grande similitude des résultats obtenus par les deux méthodes permet de conclure non seulement à la validité de cette technique, mais encore à la réalité des différences infraspécifiques décrites chez cette espèce.

Ainsi, la comparaison par l'analyse factorielle des correspondances du contenu en protéines solubles des caryopses nous permet de penser avec une certaine sécurité qu'existent des différences entre les génomes des populations en fonction de leur origine écologique.

En fait, ces résultats correspondent à ceux déjà obtenus par des cultures en milieu contrôlé (GASQUEZ et COMPOINT, 1973 *b*) qui montraient des différences de comportement de populations vis-à-vis de l'eau dans le sol, de la présence à faible dose d'herbicide utilisé dans les maïs (atrazine 3 000 g/ha) et de la texture du sol. Cette variabilité vis-à-vis d'un herbicide a déjà été constatée à plusieurs reprises notamment chez *E. crus galli* avec le dalapon (ROCHE et MUZIK, 1964), sans avoir pu être reliée à des variations de facteurs écologiques.

On peut désormais penser qu'*E. crus galli* est une espèce linnéenne en voie de différenciation en fonction des divers types de culture (caractérisés par leur écologie et leur technique culturale) où elle croît. Ainsi, les apports successifs du même herbicide dans le sol agissent comme un facteur de sélection très puissant, puisque l'on peut mettre en évidence après une dizaine d'années d'application des différences génotypiques liées à la présence de ces produits. De telles données ont déjà été reportées par ailleurs, chez *Senecio vulgaris* (RYAN, 1970) et chez *Poa annua* (GRIGNAC, 1974) qui présentent des résistances accrues à une matière active herbicide après application répétée à plusieurs générations. Nous avons ainsi mis en place une série d'expérimentations pour rechercher la vitesse et les modalités de différenciation infraspécifique sour l'influence d'un herbicide et peut-être ainsi déterminer l'importance des variations génétiques mises en évidence.

Reçu pour publication en août 1975.

SUMMARY

CONTRIBUTION OF ELECTROPHORESIS WITH PULSED POWER SUPPLY TO THE TAXONOMY OF *ECHINOCHLOA CRUS GALLI* (L) P.B.

To obtain a more accurate study of the infraspecific differentiation in the weed *Echinochloa crus galli* (L) P.B. a technique of electrophoresis based on the use of pulsed power supply was applied. The comparison of the proteinograms through the factor analysis allowed to define popu-

lation groups as related to the ecology ef their native environment (rice fields, wet and uncultivated land, maize culture on sandy soils, maize culture on clayey soils, other cultures) and to conclude that there is a genetic differentiation with regard to water in soil and especially to the repeated application of the same herbicide (atrazine) to a monoculture (maize).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BENZECRI J. *et al.*, 1973. *L'Analyse des données.* Dunod, Paris.

BILLARD J. P., BOUCAUD J., 1971. Analyse électrophorétique en gel de polyacrylamide des protéines séminales et foliaires de *Sueda maritima* (L.) DUN. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, **273**, D, 1703-1706.

BOULTIER D., THURMAN D. A., THURNER B. L., 1966. The use of disc electrophoresis of plant proteins in systematics. *Taxon,* **15**, 135-143.

CHERRY J. P., KATTERMAN F. R. H., ENDRIZZI J. E., 1970. Comparative studies of seed proteins of species of *Gossypium* by gel electrophoresis. *Evolution,* **24**, 431-447.

DASS H. C., 1972. Analysis of species relationships in *Avenae* by thin layer chromatography and disc electrophoresis. *Canad. J. Genet. Cytol.*, **14**, 305-316.

DAVIS B. J., 1964. Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **121**, 404-427.

ELLIS R. P., 1971. The identification of wheat varieties by the electrophoresis of grain proteins. *J. Nat. Inst. agric. Bot.*, **12**, 223-235.

FRELIN C., GASQUEZ J., 1973. Essai d'utilisation de la focalisation isoélectrique en taxonomie animale et végétale. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, **277**, D, 1817-1819.

GASQUEZ J., 1971. Apport de quelques méthodes modernes de la Taxonomie à l'étude de *Festuca ovina* L. ssp. *macrophylla* (St Y.) BID. *Ann. Sci. Univer. Besançon Bot.*, 3e Ser., **10**, 43-116.

GASQUEZ J., COMPOINT J. P., 1973 *a*. Premières données taxonomiques sur *Echinochloa crus galli* (L.) PB. et espèces voisines par électrophorèse en tube sur gel de polyacrylamide. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, D, **277**, 837-840.

GASQUEZ J., COMPOINT J. P., 1973 *b*. Étude préliminaire de la variation infra-spécifique chez *Echinochloa crus galli* (L.) PB. Communication présentée au *4e colloque sur l'écologie et la biologie des mauvaises herbes*, Marseille.

GRIGNAC P., 1974. Sélection d'un biotype de paturin annuel résistant au métoxuron par répétition de traitements herbicides. *C. R. Acad. Agric. Fr.*, **60** (6), 401-408.

LEROY H., HERBERGER J., 1970. Weeds of tropical crops. *Proc. 10th Br. Weed Control Conf.*, 1132-1149.

MILLER M. K., SCHONOHRST M. H., MCDANIEL R. G., 1972. Identification of hybrids from alfalfa crosses by electrophoresis of single seed proteins. *Crop Sci.*, **12** (4), 535-537.

ORNSTEIN, 1964. Disc electrophoresis. I. Background and Theory. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **121**, 321-347.

ROCHE B. F., MUSIK I. J., 1964. Ecological and physiological study of *Echinochloa crus galli* (L.) PB. and the response of its biotypes to sodium 2,2-dichloropropionate. *Agron. J.*, **56** (2), 155-160.

ROMANE F., 1972. *Application à la phytoécologie de quelques méthodes d'analyse multivariable.* Thèse Docteur-Ingénieur. Montpellier.

RYAN G. F., 1970. Resistance of common groundsel to simazine and atrazine. *Weed Sci.*, **18**, 614-616.

SIDDIQ E. A., NERKAR Y. S., MEHTA S. L., 1972 Intra and inter subspecific variation in soluble proteins of *Oryza sativa*. *Theor. appl. Genet.*, **42**, 351-356.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (2), 357-363.

NOTE

ÉTUDE DE LA DIFFUSION DE VIRUS DE TYPE ILAR (TACHES ANNULAIRES NÉCROTIQUES) DANS UN VERGER DE CERISIER (*PRUNUS AVIUM*)

Cl. MARENAUD et G. LLAGER*
avec la collaboration technique de K. Mazy et R. Raynaud

Station de Recherches d'Arboriculture fruitière,
Centre de Recherches de Bordeaux, I. N. R. A.,
33140 Pont de la Maye

* *Station de Recherches fruitières de Burjasot,*
Valence (Espagne) (1)

RÉSUMÉ

L'étude de la diffusion par le pollen, de virus de type ILAR (Isometric Labile Ring Spot), a été effectuée durant quatorze ans (1961 à 1974) dans un verger de *Prunus avium*. Le taux de transmission des virus reste faible durant les dix premières années de la vie du verger puis s'élève ensuite très rapidement pour atteindre 72,8 p. 100 à quatorze ans.

L'incidence agronomique des virus de type ILAR est souvent importante lorsque la contamination a lieu au moment du greffage et que l'un des symbiotes est infecté ; au contraire, dans cet essai, l'influence des viroses transmises par le pollen sur les performances des arbres adultes contaminés demeure faible pendant les années qui suivent cette contamination.

INTRODUCTION

Dès 1958, Way et Gilmer mettaient en évidence, d'une manière fortuite, les possibilités de transmission par le pollen du virus des taches annulaires nécrotiques (NRSV) chez *Prunus cerasus*. Gilmer et Way (1961), George et Davidson (1963)

(1) En stage à la Grande-Ferrade en 1968-1969.

démontraient d'une manière expérimentale la contamination par le pollen, d'arbre à arbre, du virus du Nanisme du Prunier (PDV) chez l'espèce *P. cerasus*. Ces deux virus appartiennent au groupe ILAR défini par FULTON en 1968.

GILMER (1965) confirmait le même processus d'infection par le pollen chez l'espèce *P. avium*, BERNHARD *et al.* (1973) chez l'espèce *P. persica*, CAMERON *et al.* (1973) chez *P. domestica*.

On sait donc maintenant que des arbres sains appartenant aux diverses espèces de *Prunus* cultivées peuvent être contaminés au verger par du pollen issu d'arbres de même espèce infectés par les virus ILAR. On sait également que ce type de virus n'est pas susceptible d'être transmis par des vecteurs Arthropodes (PHILIPS, 1951 ; SWENSON et MILBRATH, 1964).

Les virus ILAR sont très répandus chez les *Prunus*. Les indexages pratiqués depuis une dizaine d'années à la Station de Recherches d'Arboriculture fruitière de Bordeaux donnent un pourcentage global d'infection de l'ordre de 20 p. 100 chez les cultivars indexés. Depuis 1968, les arboriculteurs français disposent d'un matériel végétal génotypiquement défini et garanti de tout virus ou mycoplasme connus : ce matériel porte le label I.N.R.A.-C.T.I.F.L.

D'une manière générale, le matériel végétal sain conserve ce bon état sanitaire s'il est planté à l'abri des contaminations ultérieures aériennes (vecteurs Arthropodes ou pollen) ou souterraines (greffes de racines, Nématodes). Cette situation privilégiée est difficilement compatible avec les nécessités et les exigences qu'imposent les créations de vergers. Dans ces conditions deux questions se posent : la première concerne l'intégration du système dans le schéma général des sélections sanitaires en place actuellement en France, la seconde soulève le problème du maintien des performances du matériel végétal sélectionné. Aussi est-il intéressant d'étudier la cinétique des contaminations naturelles par les virus du type ILAR d'un verger de *P. avium* placé dans les conditions normales de culture et d'indiquer dans cette note les résultats obtenus. Quelques informations complémentaires concernant le comportement agronomique des arbres étudiés seront également fournies.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel

Le but initial du verger, créé en 1961, était l'étude de la variabilité génétique existant à l'intérieur de la variété population « Napoléon ». L'essai consistait donc à comparer les performances agronomiques de divers clones de cette variété ; les transmissions par le pollen étant alors inconnues pour cette espèce, l'essai ne comportait pas de dispositif expérimental élaboré qui aurait permis de mettre en évidence l'incidence éventuelle des contaminations au cours de la vie du verger. Cet essai était constitué par 214 arbres plantés à 5 × 6 mètres. Le porte-greffe utilisé était *P. avium* clone F 12/1 de multiplication végétative. La vigueur des arbres ayant été très importante, il a été nécessaire de pratiquer un arrachage partiel en 1970 et 1971. Les distances de plantation furent portées à 10 × 6 mètres. Finalement ne sont demeurés dans le verger que 114 arbres qui ont fait l'objet d'observations depuis 1968 soit : 64 arbres de la variété population « Napoléon », 19 de la variété « Burlat » et 31 de la variété « Early Rivers ». Ces deux dernières étant les variétés pollinisatrices. L'ensemble des arbres était sain à la plantation à l'exception de deux arbres de la variété « Napoléon » infectés par le virus du Necrotic Ring Spot.

Méthodes

La détection du virus du Necrotic Ring Spot a été réalisée en utilisant deux techniques différentes selon la saison :

au printemps :

a) inoculation par voie mécanique sur *Cucumis sativus* variété « NK 804 » à partir de pétales de fleurs de Cerisier (le tampon d'extraction utilisé fut de la nicotine à 2,5 p. 100, additionné de carborundum 600 mesh et de charbon activé, le pH était égal à 8,0) ;

b) les plants ayant réagi négativement en (*a*) sont à nouveau indexés sur concombre à partir de jeunes tissus foliaires.

en été :

inoculation par la technique du « chip budding » de l'indicateur spécifique des virus du groupe ILAR, le *Prunus serrulata* variété » Shirofugen ».

Des observations visuelles portant sur les symptômes foliaires, en verger, ont été réalisées certaines années (1974 en particulier) et ont permis de confirmer les résultats des indexages pratiqués.

RÉSULTATS

Les résultats concernent d'une part la diffusion du virus dans le verger et d'autre part l'incidence de ces contaminations sur la croissance et la production des arbres nouvellement infectés.

A. — *Diffusion du virus*

Les résultats sont présentés à la figure 1.

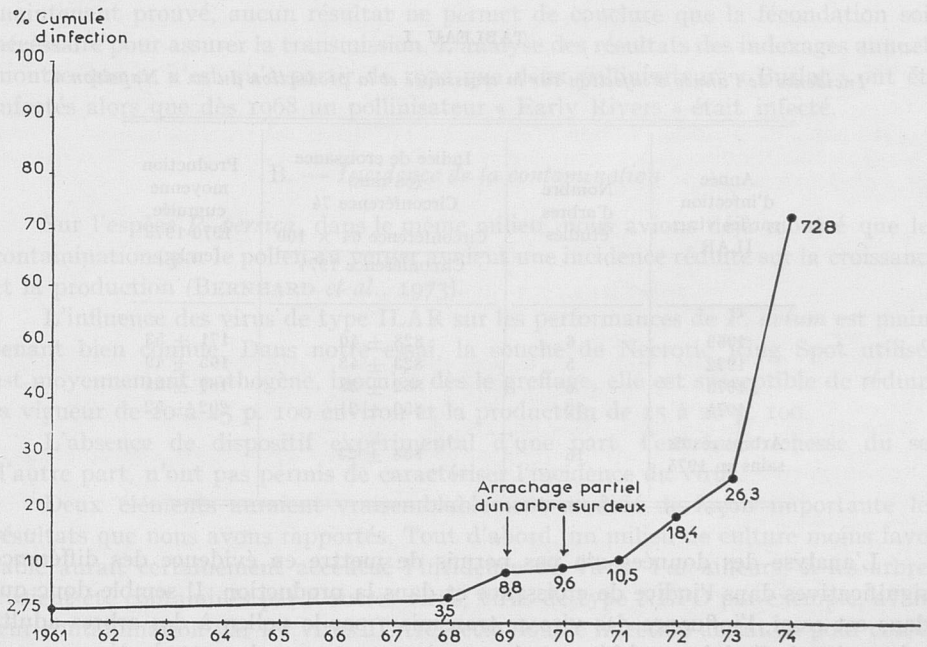


FIG. 1. — *Diffusion de virus ILAR dans un verger de cerisier* (P. avium) (1961-1974)

L'examen de ce graphique montre que la diffusion de la virose est lente durant les dix premières années puis augmente très sensiblement à partir de la douzième année. Il semble que les arrachages effectués en 1969 et 1970 aient provoqué une distorsion de la courbe étudiée en bloquant l'extension de la maladie de telle sorte qu'elle ne puisse atteindre le seuil épidémique, c'est-à-dire le niveau nécessaire à une progression massive, non pas dès 1970 mais seulement en 1973.

Il convient de souligner également la différence de comportement des cultivars à l'égard de la contamination par le pollen ; en effet, dans cet essai, après 14 ans d'observations, on obtient 37 p. 100 d'arbres infectés avec le cultivar « Burlat » et 80 p. 100 avec « Napoléon ».

Le test 2 I appliqué aux pourcentages donne une différence hautement significative. Par contre, les différences des taux de contaminations entre « Early Rivers » et « Napoléon » ne sont pas significatives. Cette différence de sensibilité variétale à l'infection virale avait déjà été remarquée par POSNETTE dans l'analyse globale d'infection de cerisier en verger par le pollen.

B. — *Incidence sur la croissance et la production*

Les informations concernant la croissance et la production ne peuvent pas faire l'objet d'analyse précise du fait de l'absence de dispositif expérimental adapté à cette étude.

Les résultats donnés possèdent seulement une valeur indicative sans atteindre la rigueur scientifique souhaitée. Le tableau 1 rassemble les mesures et les pesées effectuées uniquement sur les clones de « Napoléon ».

TABLEAU I

Incidence de l'année d'infection sur la croissance et la production du cv. « Napoléon »

Année d'infection par les virus ILAR	Nombre d'arbres étudiés	Indice de croissance (en mm) Circonférence 74 / Circonférence 64 × 100 / Circonférence 1974	Production moyenne cumulée 1970-1973 (en kg)
1969	6	828 ± 40	171 ± 53
1972	5	823 ± 43	165 ± 49
1973	6	862 ± 38	189 ± 64
1974	32	850 ± 21	202 ± 52
Arbres restés sains en 1975	15	838 ± 23	

L'analyse des données n'a pas permis de mettre en évidence des différences significatives dans l'indice de croissance et dans la production. Il semble donc que, dans cet essai, l'influence des viroses transmises par le pollen à des arbres adultes sains soit très limitée aussi bien sur leur croissance que sur leur production au cours de leur vie au verger.

DISCUSSION

Les résultats présentés dans les deux parties de cette note feront l'objet de discussions distinctes.

A. — *Diffusion du virus*

La diffusion naturelle du virus du Necrotic Ring Spot dans ce verger de *P. avium*, en l'absence d'autres modes possibles de contamination peut donc être imputée à la transmission par le pollen d'arbre à arbre.

On observe pour la variété « Napoléon » une diffusion lente du virus jusqu'à l'âge de dix ans puis un accroissement très rapide de la contamination naturelle.

La cinétique de la contamination par le pollen paraît être très proche chez *P. avium* de celle observée chez *P. cerasus* ; elle paraît en fait étroitement liée à l'importance de la floraison.

De nombreux travaux ont été consacrés à la diffusion des virus ILAR par le pollen chez *P. cerasus* : DAVIDSON et GEORGE (1964), GILMER (1965), DEMSKI et BOYLE (1968), SHUCH, MISCHKE et KUNZE (1966), CAMERON, MILBRATH et TATE (1973). Par contre cette note est très probablement une des premières mises au point réalisées chez *P. avium*.

Alors que très souvent, *P. cerasus* est autocompatible, *P. avium* est, dans l'immense majorité des cas, autostérile et la dissémination pourrait être associée à l'infection des arbres pollinisateurs. Cependant si le rôle vecteur du pollen est maintenant prouvé, aucun résultat ne permet de conclure que la fécondation soit nécessaire pour assurer la transmission. L'analyse des résultats des indexages annuels montre que ce n'est qu'à partir de 1972 que deux pollinisateurs « Burlat » ont été infectés alors que dès 1968 un pollinisateur « Early Rivers » était infecté.

B. — *Incidence de la contamination*

Sur l'espèce *P. persica*, dans le même milieu, nous avions déjà montré que les contaminations par le pollen au verger avaient une incidence réduite sur la croissance et la production (BERNHARD *et al.*, 1973).

L'influence des virus de type ILAR sur les performances de *P. avium* est maintenant bien connue. Dans notre essai, la souche de Necrotic Ring Spot utilisée est moyennement pathogène, inoculée dès le greffage, elle est susceptible de réduire la vigueur de 20 à 25 p. 100 environ et la production de 15 à 20 p. 100.

L'absence de dispositif expérimental d'une part, l'extrême richesse du sol d'autre part, n'ont pas permis de caractériser l'incidence du virus.

Deux éléments auraient vraisemblablement modifié de façon importante les résultats que nous avons rapportés. Tout d'abord, un milieu de culture moins favorable aurait certainement accentué l'incidence du virus. Par ailleurs, si les arbres avaient été contaminés par d'autres virus, virus de type NEPO par exemple, avant leur contamination par les virus ILAR, cette double infection aurait eu pour conséquence des manifestations de synergie bien connues dans les zones traditionelles de culture.

CONCLUSION

Chez *P. avium*, le taux de transmission du virus du Necrotic Ring Spot par le pollen est faible durant les dix premières années de la vie du verger, il s'élève ensuite très rapidement pour atteindre 72,8 p. 100 à 14 ans.

Sur le plan agronomique, on peut constater que dans un sol riche et profond, la contamination d'un arbre sain déjà bien développé par une souche virale à pathogénie moyenne n'a pratiquement pas d'influence sur ses potentialités agronomiques.

Dans ce verger, l'étude de la cinétique des contaminations par le pollen du virus du Necrotic Ring Spot chez *P. avium* permet de constater que les avantages initiaux, apportés par l'utilisation de matériel sain en présence de source infectieuse limitée, se maintiennent suffisamment pour assurer aux cerisiers une « immunité relative » à l'égard de l'influence nocive des virus sur leurs performances agronomiques.

Reçu pour publication en juillet 1975.

SUMMARY

STUDY OF THE PROPAGATION OF ISOMETRIC LABILE RING SPOT VIRUSES IN AM CHERRY ORCHARD (*PRUNUS AVIUM*)

The transmission of viruses belonging to ILAR type through pollen was studied during fourteen years (from 1961 to 1974) in an orchard of *Prunus avium*. The transmission rate of the viruses remains low during the first ten years of the orchard existence and then rises very rapidly to reach 72,8 p. 100 after fourteen years.

The agronomic significance of ILAR viruses is high when contamination takes place at grafting and one of the symbiont is infected; on the contrary, during this trial, the influence of virus diseases transmitted through pollen on the performances of the contaminated adult trees remains low during the years following this contamination.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BERNHARD R., SAUNIER R., MARENAUD C., 1973. Évolution et performances d'un clone sanitaire de Pêcher issu de thermothérapie après huit années d'observation. *Acta hort.*, **44**, 69-80.

CAMERON H. R., MILBRATH J., TATE L., 1973. Pollen transmission of *Prunus* Ring Spot virus in Prune and Sour Cherry orchards. *Plant Dis. Rep.*, **57**, 3, 241-243.

DAVIDSON T. R., GEORGE J. A., 1964. Spread of Necrotic Ring Spot and Sour Cherry Yellows viruses in Niagara Peninsula orchards. *Can. J. Plant Sci.*, **44**, 471-484.

DEMSKY J., BOYLE J., 1968. Spread of Necrotic Ring Spot virus in a Sour Cherry orchard. *Plant Dis. Rep.*, **52**, 972-974.

FULTON R.-W., 1968. Relationships among the Ring Spot viruses of *Prunus*. *Dtsch. Akad. Landwirt. Berlin, Tag.*, **97**, 123-138.

GEORGE J. A., DAVIDSON T. R., 1963. Pollen transmission of Necrotic Ring Spot and Sour Cherry Yellows from tree to tree. *Can. J. Plant Sci.*, **43**,276-288.

GILMER R. M., 1965. Additional evidence of tree to tree transmission of Sour Cherry Yellows virus by pollen. *Phytopathology*, **55**, 482-483.

GILMER R., WAY R., 1961. Pollen transmission of Necrotic Ring Spot and Prune Dwarf viruses in Sour Cherry. *Proc. 4th Symp. Virus diseases on fruit trees in Europe. Tidsskr. Planteavl.*, **65**, 111-117.

PHILIPS J., 1951. An annotated list of Hemiptera inhabiting Sour Cherry orchards in the Niagara Peninsula (Ontario). *Can. Entomol.* **83**, 194-205.

POSNETTE A.-F., 1965. (Communications personnelles.)

SCHUCH K., WISCHKE K., KUNZEL 1967. Die Ausbreitung der Stecklenberger Krankheit in einer Sauerkirschenaulage. *Mitt. Der. Burd.*, **121**, 162-167.

SWENSON K., MILBRATH J., 1964. Insect and mite transmission tests with the *Prunus* Ring Spot virus. *Phytopathology*, **54**, 399-404.

WAY R., GIMMER R., 1958. Pollen transmission of Necrotic Ring Spot virus in Sour Cherry. *Plant Dis. Rep.*, **42**, 1222-1224.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (2).

CONTENTS

Y. Demarly. — Genetic program in higher plants. Theoretical aspects 117

P. Rotili L. Zannone, P. Jacquard. — Effects of association on the evaluation of Lucerne populations 139

H. Feyt. — Proposal for a computer simulation model applied to quantitative characters 157

H. Feyt. — A critical study of diallel methods by computer simulation 173

F. Blondon, A. Gallais. — The effect of temperature, level of lighting and photoperiod on the floral development of four genotypes of Maize 195

P. Guy. — Genetic control of tolerance to *Colletotrichum trifolli* in *Medicago sativa* L..... 215

R. Cousin. — Genetic improvement of winter Pea 235

A. Bourdet, Renée Berrier, J.-C. Autran. — Strength estimation in early generation of Wheat. Comparative study of small scale tests 265

Indra Sen Singh. — Induced sterility in Petunia. Correlation between pollen and ovule fertilities 279

H. Clanet, J.-C. Salles. — Study of the action of gibberellic acid on the development of flower primorida in peach-tree : practical consequences 285

A. Cadic, L. Decourtye. — Preliminary results on floral biology and genetics of Barberry : breeding consequences 295

D. Maizonnier. — Production of natural tetraploids and trisomics in *Petunia hybrida* 305

M. Clerjeau, H. Laterrot. — A method for screening Tomato seedlings resistant to *Pyrenochaeta lycopersici* 319

A. Carbonneau. — Principles and methods for measuring leaf area. Attempt to define the various types of leaves in *Vitis* genus 327

J. Gasquez, J.-P. Compoint. — Contribution of electrophoresis with pulsed power supply to the taxonomy of *Echinochloa crus galli* (L.) P.B. 345

Note.

Cl. Marenaud, G. Llager. — Study of the propagation of Isometric Labile Ring Spot viruses in am Cherry orchard (*Prunus avium*) 357

RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Le manuscrit doit être dactylographié sur papier format 21 × 29,7, avec un double interligne, au recto seulement. Chaque page sera numérotée et des feuilles *séparées* seront utilisées pour les références bibliographiques, les tableaux, les légendes des figures et graphiques, etc.

Au début de chaque mémoire, on indiquera : — *le titre du mémoire ;* il ne devra pas comporter d'abréviations ni de formules chimiques (sauf pour les isotopes) ; — *le nom des auteurs*, précédé des initiales du prénom pour les hommes, du prénom complet pour les femmes ; — *le nom des techniciens* ayant collaboré à l'étude relatée, précédé de la mention : avec la collaboration technique de... ; *le nom de l'établissement*, dans lequel ont été effectuées les recherches et son adresse.

Les mémoires seront rédigés, autant que possible, d'après le plan ci-dessous :
a) *résumé* (250 mots max.) suffisamment précis pour que sa lecture renseigne sur la nature du travail et son importance ; b) *introduction* dans laquelle on indique l'objet des recherches entreprises en relation avec les travaux déjà effectués dans le domaine ; c) *techniques expérimentales et matériel utilisé*, en donnant, sous une forme concise, tous les détails nécessaires pour que le lecteur puisse répéter les expériences ; d) *résultats*, à présenter de la manière la plus brève possible ; e) *discussion* et *conclusion ;* f) *titre et résumé* en anglais ou destiné à être traduit en anglais comportant une analyse *complète* de l'article ; g) *remerciements* pour les collaborations, les fonds, les dons... ; h) *références bibliographiques*.

Les travaux originaux en anglais doivent présenter la même composition que les mémoires rédigés en français, mais ils comportent obligatoirement un résumé français *très complet*. Les figures, graphiques, tableaux et photographies seront sous-titrés en français.

Pour les autres documents (notes, mises au point, revues, rapports, etc.), l'auteur devra suivre un plan ogique et le mettre en évidence par une titration appropriée.

Les références bibliographiques doivent être citées dans le texte de la manière suivante : (Dupont et Duval, 1954). Lorsque la référence comporte plus de trois auteurs, seul le premier sera mentionné, suivi de *et al.* A la fin de l'article, les références constituant la bibliographie doivent être citées par ordre alphabétique des noms d'auteurs, et par ordre de dates pour un même auteur.

Pour les articles : le (s) nom (s) de (s) auteur (s) suivi (s) des initiales du (des) prénom (s) ; la date de parution de l'article ; le titre de l'article (dans la langue originale pour l'allemand, l'anglais, l'italien, l'espagnol et en français dans tous les autres cas, avec indication entre parenthèses de la langue d'origine, sauf si l'auteur étranger a sous-titré dans l'une des quatre langues mentionnées) : le titre du périodique en abrégé, selon la *World List of Scientific Periodicals*, ou le *Bulletin Signalétique du C. N. R. S. ;* le volume, la première et la dernière page de l'article.

Pour les ouvrages : le nom de l'auteur avec les initiales du prénom ; la date de l'édition ; le titre complet de l'ouvrage dans la langue originale, sans abréviations (pour les langues utilisant des alphabets autres que l'alphabet latin, la traduction du titre sera donnée entre parenthèses, avec mention de la langue d'origine) ; le volume ; la première et la dernière page du paragraphe se rapportant aux résultats discutés, et, si l'on cite l'ouvrage en entier, le nombre de volumes et le nombre total de pages ; le numéro de l'édition s'il y en a plusieurs ; le nom de l'éditeur ; le lieu de l'édition. Si l'ouvrage est collectif, on indiquera en plus le nom de l'auteur du chapitre cité, le nom des rédacteurs principaux, précédé de la mention « in », le titre de l'ouvrage.

La mention de « communications personnelles » ou « données non publiées » etc. doit être faite entre parenthèses. Lorsque l'auteur a relevé une référence dans une revue d'« Abstracts », le mentionner à la fin de la référence, entre parenthèses.

Les tableaux, dessins, graphiques, cartes, photographies, doivent être fournis à part. Les tableaux et figures doivent faire l'objet de deux numérotations distinctes, en chiffres arabes l'une et l'autre.

Les auteurs peuvent disposer leurs tableaux soit dans le sens de la largeur de la revue, soit dans le sens de la longueur. Dans le sens de la largeur, le total des signes et des espaces disponibles est de 100 Dans le sens de la longueur, il est de 155. Les tableaux en longueur, c'est-à-dire ceux pouvant disposer de 155 signes, ne seront admis que s'ils comprennent plus de 8 lignes de chiffres, de manière qu'une page entière de la revue ne soit pas occupée par un tableau très long et très étroit. Les graphiques ne doivent pas faire double emploi avec les tableaux.

Les légendes et les énoncés des graphiques et dessins doivent être dactylographiés sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

Les graphiques, schémas, cartes, dessins d'appareils seront envoyés soit *à l'état définitif* soit *à l'état de projets*, leur exécution définitive étant confiée au Bureau de Dessin de l'I. N. R. A. Seules deux réductions à l'impression sont admises : *soit* × 0,5, *soit* × 0,25.

Il est rappelé que le format utile des *Annales* est : 12,5 × 19 cm ; ces dimensions ne doivent pas être dépassées.

Photographies : Il est recommandé de fournir des épreuves bien contrastées sur papier blanc, et de préférence en format 9 × 12. Si les photographies doivent être associées pour constituer des planches, on adoptera les normes suivantes : 2 photos : 9 × 12 ; 4 photos : 9 × 5,5 ; 6 photos : 5,5 × 5,5. Dans ce cas, chaque photo devra porter un numéro en chiffres arabes visible après clichage.

Les légendes des photographies doivent être dactylographiées sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

Il est demandé d'indiquer sur le manuscrit, dans la marge, en regard du texte, l'emplacement souhaité des tableaux et figures.

Envoi du manuscrit : M. Rives ; 11, rue Jean-Nicot 75007 Paris, France. On demande deux exemplaires.

Correction des épreuves : les épreuves que les auteurs recevront à corriger sont à retourner, après correction, à cette même adresse.

Le Directeur de la publication : M.-L. CAGNAC

Imprimerie Bussière à Saint-Amand (Cher), France. — 3-1976

Dépôt légal : 3e trimestre 1976. N° d'impression : 746

CPPAP n° 26633

annales de l'amélioration des plantes

Trimestriel

1976

Vol. 26 . N° 3

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

Reproduction, même partielle, interdite sans autorisation des auteurs
et de l'Institut national de la Recherche agronomique
à l'exception des résumés

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (3), 365-386.

HAPLOÏDIE ET SÉLECTION

ÉVOLUTION DES PROBABILITÉS DES GÉNOTYPES HAPLOÏDES TIRÉS D'UNE POPULATION DIPLOÏDE ILLIMITÉE SOUMISE A DES CYCLES D'AUTOFÉCONDATION ET DE SÉLECTION

H. FEYT et G. PELLETIER

Laboratoire d'Amélioration des Plantes,
Université de Paris-Sud, Centre d'Orsay, Bâtiment 360,
91405 Orsay

RÉSUMÉ

La comparaison de la méthode haploïde et de la sélection d'une plante autogame conduite en autofécondation a été effectuée d'un point de vue probabiliste sur des populations diploïdes d'effectifs illimités en faisant varier :

— la génération d'obtention des haploïdes,
— le taux de sélection au niveau diploïde,
— les interactions géniques responsables de la valeur des différents génotypes.

En l'absence d'erreur due au milieu, on ne met en évidence une efficacité plus grande des haploïdes que dans certains cas d'interactions géniques (superdominance et épistasies) où la population diploïde atteint un équilibre et est formée d'individus encore très hétérozygotes ; cet intérêt est d'autant plus fort que le taux de sélection est faible. L'erreur due au milieu est assimilée approximativement à une augmentation du taux de sélection. A la limite la sélection est inefficace et l'obtention d'haploïdes, comparable à la sélection au hasard peut être effectuée dès la F_1, pour autant que des effectifs importants d'haploïdes doublés puissent être obtenus (comparable à une F_2). L'intérêt des haploïdes qui, pour se révéler, nécessite l'obtention de ceux-ci après la F_1, est réduit par l'erreur sur l'appréciation du génotype.

La question est posée, de savoir par la pratique, si les haploïdes androgénétiques en particulier, correspondent à un tirage au hasard des gamètes.

D'autres développements seraient nécessaires pour évaluer l'intérêt de l'intégration des haploïdes dans d'autres stratégies de sélection que celle qui a été présentée ici.

INTRODUCTION

La production de plantes haploïdes (1) est en plein essor depuis une dizaine d'années, en particulier grâce aux techniques de culture de microspores. Les recherches concernant les techniques de production de plantes haploïdes trouvent leur

(1) Pour des mises au point récentes, voir *Haploids in higher plants*, Advances and Potential. Symposium 10-14 June 1974, Guelph, Canada.

justification en sélection sous divers aspects (MELCHERS, 1972). Chez une espèce autogame, l'obtention par haploïdes de lignées homozygotes à partir d'un matériel hétérozygote présente un intérêt en sélection si le progrès génétique qu'elle permet est important, probable et rapide. La fixation directe par haploïdie répond par définition au critère de rapidité qui peut suffire à justifier l'utilisation de cette technique d'autant plus que les systèmes de reproduction ou le type de développement retardent l'obtention de l'homozygotie par des voies classiques. Il s'agit en particulier des espèces pérennes. Un cas limite est celui de l'Asperge, plante pérenne et dioïque où les lignées obtenues par androgenèse sont utilisées dans des programmes d'hybridation (L. THÉVENIN, 1968 ; PELLETIER *et al.*, 1972 ; C. DORÉ, 1974).

L'importance et la probabilité du progrès génétique qui peut être attendu de l'obtention d'haploïdes chez des espèces autogames font l'objet des réflexions contenues dans cet article. Une étude précédente (NEI, 1963) a montré l'intérêt relatif des haploïdes par rapport aux diploïdes, mais aboutit à des conclusions peu adaptées à la sélection : les haploïdes sont d'autant plus intéressants par rapport aux diploïdes que les caractères recherchés se présentent avec une faible probabilité, donc qu'il est très peu probable de les obtenir effectivement. Plus récemment, WALSH (1974), en comparant par simulation une sélection pedigree et une population haploïde issue uniquement de la F_1 aboutit à la conclusion que la sélection pedigree fournit des résultats supérieurs pour autant que l'héritabilité est élevée ; dans le cas où l'effet dû au milieu est important, les deux types de sélection ont une efficacité équivalente, l'avantage des haploïdes étant de fixer rapidement et totalement des lignées dont la valeur peut être mieux évaluée.

Nous abordons dans l'étude suivante un aspect de la comparaison de deux méthodes de sélection d'une plante autogame : une sélection classique et une sélection faisant intervenir des lignées issues d'haploïdes. Nous nous placerons à un point de vue probabiliste. Nous comparerons les populations d'haploïdes doublés issus des individus sélectionnés à la génération précédente, à la population que ces mêmes individus sélectionnés fournissent par autofécondation, et ceci au cours de plusieurs cycles d'autofécondation et de sélection.

I. — CONSIDÉRATIONS PRÉLIMINAIRES

Si à partir d'une F_1, où l'on considère w loci indépendants hétérozygotes $\frac{A}{a}$, on fabrique des haploïdes doublés, la probabilité P_H d'obtenir la lignée qui possède w loci $\frac{A}{A}$ est $(1/2)^w$ (tabl. 1) (1). Très vite cette probabilité devient extrêmement faible, d'où l'impossibilité pratique de considérer les haploïdes issus de la F_1 comme un moyen d'obtenir la meilleure lignée dans l'hypothèse où l'on recherche tous les gènes A, dès que w est supérieur à 10. D'autre part, si l'on considère la F_2 diploïde, la probabilité P_D pour un individu de ne perdre à aucun locus les gènes A est $(3/4)^w$

(1) Dans le cas des haploïdes, la probabilité d'obtenir une lignée qui possède w loci $\frac{A}{A}$ est aussi la probabilité de ne pas perdre w allèles A.

(tabl. 1). Dans ces conditions on peut comparer en fonction de w les tailles de populations diploïdes F_2 (E_D) et les tailles de populations haploïdes doublés, tirés de la F_1 (E_H) pour avoir la quasi certitude (au risque 5 p. 100) de ne pas perdre les gènes favorables d'une part, et d'obtenir directement la meilleure lignée, d'autre part. On voit nettement que les populations haploïdes doivent être beaucoup plus grandes que les populations diploïdes.

TABLEAU 1

Comparaison des probabilités parmi les haploïdes issus de la F_1 et parmi la F_2 de conserver tous les allèles intéressants ; effectifs minimaux au risque 5 p. 100

w	P_H	P_D	E_H	E_D
5	$3{,}12\ 10^{-2}$	0,237	96	12
10	$9{,}77\ 10^{-4}$	0,056	3 070	52
15	$3{,}05\ 10^{-5}$	0,013	98 000	223
20	$9{,}54\ 10^{-7}$	0,0032	$3{,}14\ 10^{6}$	944

Le problème se pose de façon différente si l'on se contente de ne fixer que w' gènes intéressants parmi les w possibles. Il y a alors $C\frac{w'}{w}$ façons de choisir les w' gènes et en conservant $w = 20$ à titre d'exemple, on a en fonction de w' les probabilités P'_H de fixer par haploïdes de la F_1 au moins w' loci $\frac{A}{A}$ (tabl. 2). Au niveau F_2, on peut calculer les probabilités P'_D de ne pas perdre au moins w' gènes A (tabl. 2). Ce tableau montre que les effectifs nécessaires au niveau haploïde (E'_H) pour obtenir les lignées ayant un grand nombre de loci $\frac{A}{A}$ sont considérables, en comparaison des effectifs F_2 nécessaires pour ne pas perdre le même nombre de gènes A.

TABLEAU 2

Comparaison des probabilités parmi les haploïdes issus de la F_1 et parmi la F_2 de conserver les allèles intéressants pour w'loci sur 20 ; effectifs minimaux au risque 5 p. 100

w'	P'_H	P'_D	E'_H	E'_D
10	0,58	0,98	4	1
12	0,25	0,95	11	1
14	0,057	0,78	52	2
16	0,0059	0,41	506	6
18	$2{,}0\ 10^{-4}$	0,091	16 600	32
20	$9{,}54\ 10^{-7}$	0,0032	$3{,}14\ 10^{6}$	944

Si à partir de la F_1, on ne fait subir à la population aucune sélection, on tend en autofécondation vers une population de lignées, dont les probabilités sont identiques à celles des lignées issues d'haploïdes de la F_1. La figure 1 montre que pour 20 loci, on peut considérer qu'en F_9, les probabilités des différentes lignées sont pratiquement celles de la population d'haploïdes de la F_1.

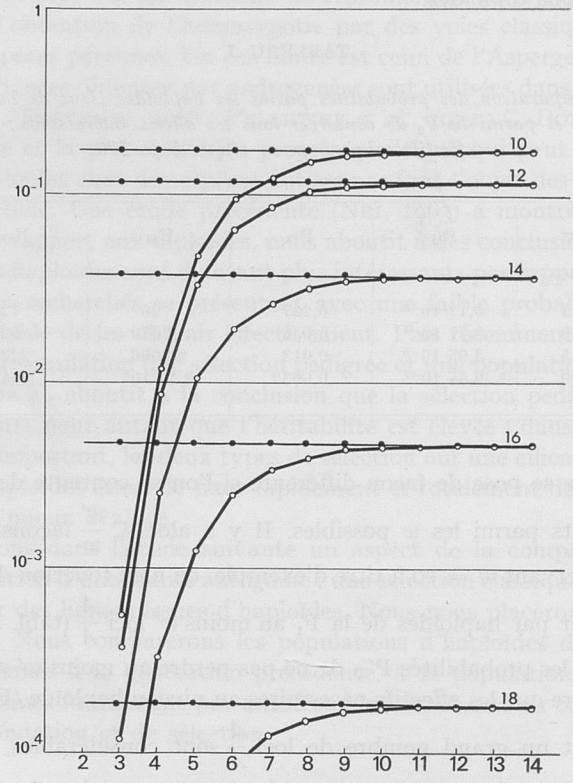


FIG. 1. — *Autofécondation sans sélection.*
Évolution des probabilités d'obtention des différentes lignées
(voie haploïde ●———● , voie diploïde o———o) *sans sélection, en fonction des générations* F_n

L'objet de nos réflexions est d'estimer dans quelle mesure l'avantage de la F_2 sur les haploïdes de F_1 est préservé par la sélection au niveau des lignées diploïdes obtenues au cours des cycles d'aufécondation, ou si, dans certains cas on peut, grâce aux haploïdes, espérer un progrès plus important et/ou plus rapide.

II. — MODÈLE D'ÉTUDE PROBABILISTE

Nous considérons en première génération (F_1) un génotype héterozygote pour w loci indépendants. Les w loci sont de type $\frac{A}{a}$ et nous admettons que tous les gènes « A » sont équivalents entre eux d'une part et qu'il en est de même pour tous les gènes « a » d'autre part.

Parmi toutes les lignées homozygotes possibles qui ne diffèrent donc entre elles que par le nombre de gènes A, nous considérons qu'il en existe une supérieure aux autres : celle qui ne contient que des loci de type $\frac{A}{A}$.

Ces hypothèses n'impliquent nullement que « A » soit dominant sur « a » ni que les lignées possibles se classent dans l'ordre correspondant au nombre de loci $\frac{A}{A}$.

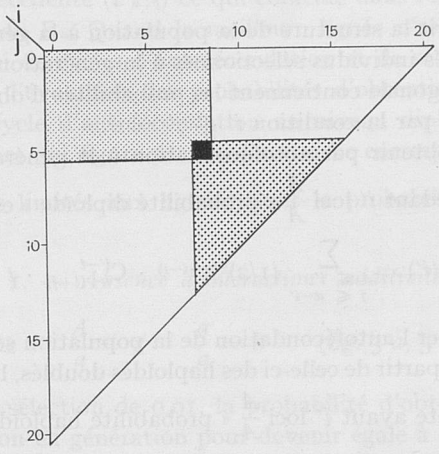


FIG. 2. — *Représentation des différents génotypes*

Le génotype représenté par la case noire possède 8 loci $\frac{A}{A}$, 5 loci $\frac{A}{a}$ et 7 loci $\frac{a}{a}$. Il peut être engendré à chaque génération d'autofécondation, avec une probabilité donnée (voir texte) par tout génotype ayant au plus 8 loci $\frac{A}{A}$ et au plus 5 loci $\frac{a}{a}$ (rectangle gris). Par autofécondation il fournira avec une probabilité déterminée (voir texte) des individus ayant au moins 8 loci $\frac{A}{A}$ et au moins 5 loci $\frac{a}{a}$ (triangle gris).

A partir de la génération F_1, les individus des générations successives sont obtenus par autofécondation. A la génération n, la composition de la population F_n, *obtenue par autofécondation des individus sélectionnés en* F_{n-1}, est décrite par une matrice $T_{n,o}$ triangulaire, dans laquelle la case (i, j), contient la probabilité du génotype : i loci fixés $\frac{A}{A}$, j loci fixés $\frac{a}{a}$, et w-i-j loci hétérozygotes $\frac{A}{a}$ (fig. 2). A cette matrice $T_{n,o}$, on associe une matrice de même dimension TVS, indépendante de l'indice n qui contient les valeurs sélectives de chaque génotype (fig. (*a*) décrites plus loin dans chaque cas). Les différents génotypes sont alors classés dans l'ordre de leurs valeurs sélectives et l'on ne retient que les meilleurs à concurrence du taux de sélection que l'on s'est fixé (0,1 ou 0,01). Cependant, tous les génotypes, ayant la même valeur sélective que le dernier retenu pour atteindre la proportion fixée, sont également conservés ; le taux de sélection choisi est donc un minimum.

Après avoir ramené à 1 la somme des probabilités des génotypes sélectionnés, on obtient une matrice incomplète $T_{n,s}$, qui décrit la composition de la population

de la génération n après sélection. On passe de la matrice $T_{n,s}$ à la matrice $T_{n+1,o}$ en utilisant la formule suivante :

$$t(i'j')_{n+1,o} = \sum_{\substack{i \leqslant i' \\ j \leqslant j'}} (1/2)^{w+i'+j'-2i-2j} \cdot C_{w-(i+j)}^{i'-i} \cdot C_{w-(i'+j)}^{j'-j} \cdot t(ij)_{n,s}$$

i' et j' étant les indices des cases à la génération F_{n+1}.

$C_{w-(i+j)}^{i'-i} \cdot C_{w-(i'+j)}^{j'-j}$ étant le nombre de façons de choisir les $i' - i$ loci A à fixer et les $j' - j$ loci a à fixer.

Cette matrice décrit la structure de la population à la génération F_{n+1}, obtenue par autofécondation des individus sélectionnés à la génération F_n.

Les cases de la diagonale contiennent les probabilités d'obtention des différentes lignées et sont définies par la condition $i' + j' = w$.

La probabilité d'obtenir par autofécondation à la génération $n + 1$ un génotype homozygote possédant i' loci $\frac{A}{A}$ « probabilité diploïde » est donc :

$$P_{Dn+1}(i') = \sum_{\substack{i \leqslant i' \\ j \leqslant w-i'}} (1/2)^{2(w-i-j)} \cdot C_{w-(i+j)}^{i'-i} \cdot t\,(ij)_{n,s}$$

Si au lieu d'effectuer l'autofécondation de la population sélectionnée de la génération F_n on fabrique à partir de celle-ci des haploïdes doublés, la probabilité d'obtenir un génotype homozygote ayant i' loci $\frac{A}{A}$ « probabilité haploïde » est :

$$P_{Hn+1}(i') = \sum_{\substack{i \leqslant i' \\ j \leqslant w-i'}} (1/2)^{(w-i-j)} \cdot C_{w-(i+j)}^{i'-i} \cdot t(ij)_{n,s}$$

Les matrices des valeurs sélectives ont été calculées pour différentes situations, suivant des valeurs arbitraires accordées aux gènes A et a, aux interactions intra-locus et aux interactions inter-loci (voir fig. a, décrites plus loin). Si l'on porte dans la troisième dimension les valeurs sélectives pour chaque case de la matrice, on dessine une « surface » du premier degré (plan) dans les cas où il n'y a pas d'interaction ou seulement des interactions intra-locus, d'un degré supérieur dans le cas où l'on considère des interactions inter-loci. Nous ne présenterons, pour ce dernier type d'interactions, que les résultats obtenus avec des surfaces du second degré.

Nous avons vu précédemment qu'avec une F_2 de 1 000 individus, on a la quasi-certitude de ne perdre aucun gène A, si l'on considère 20 loci. Les calculs présentés ici ont été effectués en prenant $w = 20$, ce qui peut correspondre à une F_2 de taille moyenne comme à un nombre moyen de chromosomes dans les espèces cultivées.

Enfin dans ces calculs, la sélection résulte d'un choix à chaque génération sur une population d'effectif illimité d'individus dont on connaît exactement la valeur génétique.

III. — RÉSULTATS

Les calculs ont été effectués au Centre de Calcul « Paris-Sud Informatique » de l'Université Paris-XI.

Pour chaque exemple, les valeurs sélectives sont représentées par un triangle

(fig. d'indice *a*) dont la surface est d'autant plus ombrée que ces valeurs sont plus élevées. Les résultats sont reportés sur deux graphiques (fig. d'indices *b* et *c*), suivant les taux de sélection choisis (0,1 et 0,01). Sur chaque graphique, les courbes représentent l'évolution de la probabilité diploïde P_D (—○— 20) d'obtenir à la génération F_n la meilleure lignée $\left(20 \text{ loci } \frac{A}{A}\right)$ par autofécondation et la probabilité haploïde (—•— 20) d'obtenir cette lignée en fabriquant les individus haploïdes à partir de la génération diploïde précédente (F_{n-1}) ce qui coïncide dans l'hypothèse la plus favorable avec la génération F_n. Quand la meilleure lignée n'est pas la plus probable après un nombre infini de cycles d'autofécondation et de sélection, une autre série de courbes représente l'évolution des probabilités d'obtention des lignées les plus probables en fin de cycle d'autofécondation au niveau diploïde P_D et au niveau haploïde P_H. Le nombre qui figure sur chaque courbe correspond au nombre de loci $\frac{A}{A}$ (nous nous sommes limités aux lignées dont la probabilité d'obtention atteint au moins 0,1).

1. — *Absence d'interaction : additivité*

$$\frac{A}{A} = 2 \qquad \frac{A}{a} = 1 \qquad \frac{a}{a} = 0 \qquad \text{(fig. 3 } a, 3\ b, 3\ c)$$

Pour un taux de sélection de 0,01, la probabilité d'obtenir la meilleure lignée augmente de génération en génération pour devenir égale à 1 en F_6. La probabilité haploïde n'atteint 10^{-3} qu'en F_4 et dépasse 10^{-2} en F_5. Cette probabilité haploïde ne précède la probabilité diploïde que de très peu.

Quand le taux de sélection est plus élevé (0,1), la fixation est plus lente. Dans notre exemple nous arrivons même en F_8 à une population en équilibre avec 20 ou 19 loci $\frac{A}{A}$. Un taux de sélection légèrement plus bas permettrait alors de fixer la meilleure lignée. Dans ce cas encore P_H ne précède que de très peu P_D.

Dans ce cas il n'y a donc pas d'avantage à utiliser les haploïdes, puisque l'on obtient les mêmes performances au niveau diploïde avec seulement une génération de retard.

2. — *Interactions intra-loci*

a) *Dominance négative* (sélection de caractères récessifs).

$$\frac{A}{A} = 2 \qquad \frac{A}{a} = 0 \qquad \frac{a}{a} = 0 \qquad \text{(fig. 4 } a, 4\ b, 4\ c)$$

L'évolution est tout à fait comparable à celle du cas précédent. La fixation est obtenue au niveau diploïde à la génération F_6 pour un taux de sélection de 0,01, pratiquement en F_8 pour un taux de sélection de 0,1 avec un équilibre entre 19 et 20 loci $\frac{A}{A}$.

b) *Dominance positive :*

$$\frac{A}{A} = 1 \qquad \frac{A}{a} = 1 \qquad \frac{a}{a} = 0 \qquad \text{(fig. 5 } a, 5\ b, 5\ c)$$

Pour un taux de sélection de 0,01, la fixation des 20 loci $\frac{A}{A}$ n'est obtenue qu'asymptotiquement. En F_6 cependant, P_H est déjà supérieure à 0,20 et P_D à 0,10. Là encore P_D et P_H sont très proches l'une de l'autre. Avec un taux de sélection de 0,1, la fixation des 20 loci $\frac{A}{A}$ n'est pas possible (P_H et P_D pour 20 loci $\frac{A}{A}$ restent inférieures à 10^{-2}). Par contre, on tend à fixer 18 loci $\frac{A}{A}$ avec une probabilité importante dès la génération F_7 aussi bien en sélection diploïde que par haploïdes.

c) *Superdominance.*

L'évolution des probabilités P_H et P_D dépend de l'intensité de la superdominance. Nous présentons ici un cas où celle-ci est moyenne puisqu'il s'agit de plantes autogames.

$$\frac{A}{A} = 2 \qquad \frac{A}{a} = 3 \qquad \frac{a}{a} = 0 \qquad \text{(fig. 6 } a, 6 \; b, 6 \; c)$$

Quand le taux de sélection est élevé (0,1) ; on arrive à une fixation lente des 20 gènes A. La probabilité haploïde n'est jamais très supérieure à la probabilité diploïde. Elle dépasse 10^{-1} en F_8. En revanche, si le taux de sélection est faible (0,01), la fixation des 20 gènes A ne peut être obtenue par autofécondation. La probabilité haploïde est faible (2×10^{-2}) et l'on a en fait plus de chance d'obtenir un nombre limité de gènes A. Dès la F_5 au niveau haploïde la probabilité de 17 gènes A dépasse 0,1 et en F_7 est près de 70 fois supérieure à la probabilité diploïde correspondante.

3. — *Interactions inter-loci* (épistasies)

Nous considèrerons à titre d'exemple quatre cas de surface des valeurs sélectives du second degré.

a) *Cas n° 1* (fig. 7 *a*, 7 *b*, 7 *c*).

$$\frac{A}{A} = 2 \qquad \frac{A}{a} = 1 \qquad \frac{a}{a} = 0 \qquad \frac{A}{A} \times \frac{A}{a} = 1$$

La surface des valeurs sélectives a un maximum situé vers le côté supérieur du triangle (ceci peut être obtenu en considérant, comme ayant une forte valeur sélective, les interactions entre les loci de type $\frac{A}{a}$ et les loci de type $\frac{A}{A}$). Dans ces conditions, quel que soit le taux de sélection la probabilité de fixer la meilleure lignée est faible (inférieure à $2 \cdot 10^{-2}$ au niveau haploïde) mais on a les meilleures chances d'obtenir une combinaison possédant 17 loci $\frac{A}{A}$. En effet quand le taux de sélection est faible (0,01), la probabilité haploïde pour 17 loci $\frac{A}{A}$ atteint 0,2 dès la génération F_5, alors que la probabilité diploïde correspondante est environ 100 fois plus faible. Pour un taux de sélection plus élevé (0,1), la différence pour 17 loci $\frac{A}{A}$

entre P_H et P_D est moins importante, bien que P_D ne dépasse pas $5 \cdot 10^{-2}$ alors que P_H atteint pratiquement 0,1 en F_6.

b) *Cas n° 2* (fig. 8 *a*, 8 *b*, 8 *c*).

$$\frac{A}{A} = 2 \qquad \frac{A}{a} = 1 \qquad \frac{a}{a} = 0 \qquad \frac{a}{a} \times \frac{A}{a} = 2$$

Une surface sensiblement symétrique de la précédente (en considérant des interactions entre loci A/a et a/a) entraîne une contre-sélection des meilleures lignées. Plus le taux de sélection est faible et plus l'on tend vers des lignées faibles (4 loci $\frac{A}{A}$ pour un taux de 0,1 ; 3 loci $\frac{A}{A}$ pour un taux de 0,01). Il est évident, dans ce cas, qu'il faut fabriquer les haploïdes dès la F_1.

c) *Cas n° 3* (fig. 9 *a*, 9 *b*, 9 *c*)

$$\frac{A}{A} = 2 \qquad \frac{A}{a} = 1 \qquad \frac{a}{a} = 0 \qquad \frac{A}{A} \times \frac{A}{a} = 1 \qquad \frac{a}{a} \times \frac{A}{a} = 1$$

Une surface intermédiaire entre les deux précédentes est obtenue en considérant des interactions entre les loci A/a et les loci homozygotes. Dans ce cas, la probabilité de la meilleure lignée reste faible, inférieure à $2 \cdot 10^{-2}$ au niveau haploïde, inférieure à $3 \cdot 10^{-4}$ au niveau diploïde quand le taux de sélection est faible (0,01). On a de bonnes chances cependant de fixer par haploïdes un nombre relativement élevé de gènes A, la probabilité de 17 loci $\frac{A}{A}$ étant voisine de 0,3 au niveau haploïde, alors qu'au niveau diploïde, elle n'est que de $4,5 \cdot 10^{-3}$.

Quand le taux de sélection est plus élevé (0,1) les probabilités P_H et P_D de la meilleure lignée sont beaucoup plus faibles et les génotypes les plus probables correspondent à 15 loci $\frac{A}{A}$. L'écart entre P_H et P_D est relativement plus faible.

d) *Cas n° 4* (fig. 10 *a*, 10 *b*, 10 *c*).

$$\frac{A}{A} = 0 \qquad \frac{A}{a} = 1 \qquad \frac{a}{a} = 0 \qquad \frac{A}{A} \times \frac{A}{A} = \frac{1}{5} \qquad \frac{a}{a} \times \frac{a}{a} = \frac{1}{12}$$

La surface des valeurs sélectives présente une dépression vers le centre du triangle. Elle peut être engendrée en tenant compte d'interactions entre loci A/A et d'interactions entre loci a/a.

L'évolution est tout à fait comparable au cas de l'additivité pure. Avec un taux de sélection de 0,1, l'évolution est plus lente et l'on tend vers une population en équilibre avec 19 loci A/A et 20 loci A/A. Un taux de sélection plus faible (0,01) permet d'atteindre le niveau 20 loci A/A dès la F_6.

e) Les autres types d'interactions du second degré : entre loci A/A et loci a/a ; entre loci A/A et loci A/A ; entre loci a/a et loci a/a, comme on peut s'en rendre compte facilement, n'apporteraient rien de plus.

IV. — DISCUSSION

L'étude effectuée par NEI, qui s'est placé au point de vue génétique des populations, néglige la contrainte principale qui est l'effectif à manipuler pour obtenir un résultat. L'étude en simulation de WALSH, limite l'obtention d'haploïdes à la F_1 pour des caractères résultant d'interactions géniques simples.

L'analyse présentée ici n'a pas la prétention de répondre de façon exhaustive au problème mais apporte des éléments nouveaux d'appréciation.

Récapitulation des résultats

En raisonnant sur des populations diploïdes d'effectifs illimités et pour des caractères dont on sait mesurer parfaitement l'expression phénotypique, il apparaît que :

1. S'il n'existe pas d'interaction, cas d'additivité pure, il n'y a aucun avantage en probabilité pour les haploïdes, leur utilisation éventuelle en fin de cycle de sélection classique n'amenant que la certitude de la fixation. Un taux de réussite relativement faible dans la production d'haploïdes est alors acceptable.

2. S'il existe des interactions intra-loci, les mêmes conclusions s'appliquent aux cas de dominance négative et positive. Par contre, dans le cas de superdominance, il y a avantage à utiliser les haploïdes si un taux de sélection trop faible ne permet pas d'atteindre un haut niveau de fixation en fin de sélection.

3. Quand on fait intervenir des interactions inter-loci, on montre que, dans les cas (1) et (3) où il existe un progrès par sélection, sans possibilités cependant d'atteindre une fréquence élevée du génotype portant 20 loci A/A, la probabilité haploïde est nettement supérieure à la probabilité diploïde correspondante. Dans tous les cas, un taux de sélection faible (0,01) donne de meilleurs résultats qu'un taux de sélection élevé (0,1) aussi bien pour le niveau des performances absolues des haploïdes que pour l'écart entre P_H et P_D. On peut donc dire qu'il existe un certain nombre de cas où, du seul fait des interactions géniques, il y a avantage à utiliser les haploïdes, mais seulement après un certain nombre de générations de sélection au niveau diploïde. Dans notre exemple de 20 gènes, si nous nous fixons 0,1 comme probabilité minimale au niveau haploïde (ce qui revient à produire au moins une trentaine de lignées issues du doublement des haploïdes), ce nombre de générations varie entre 4 et 9, suivant les cas ; cet avantage en probabilité est encore augmenté du fait que les lignées issues d'haploïdes n'ont à être comparées qu'entre elles alors que les

FIG. 3 à 10 →

a) Surface des valeurs sélectives représentant schématiquement la matrice TVS. Les zones sont d'autant plus ombrées que les valeurs sélectives sont plus élevées. Seules quelques lignes de niveaux ont été représentées, bien que les surfaces soient pratiquement continues.

b) Évolution des probabilités haploïdes en fonction des générations pour un taux de sélection de 0,01.

c) Évolution des probabilités haploïdes et diploïdes en fonction des générations pour un taux de sélection de 0,1.

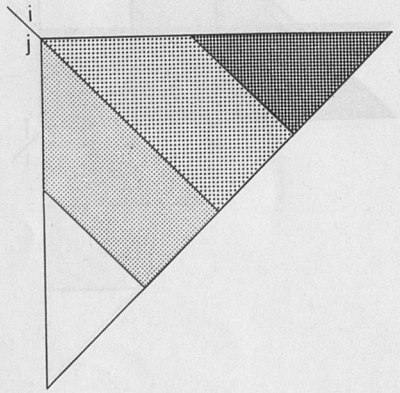


FIG. 3 *a*

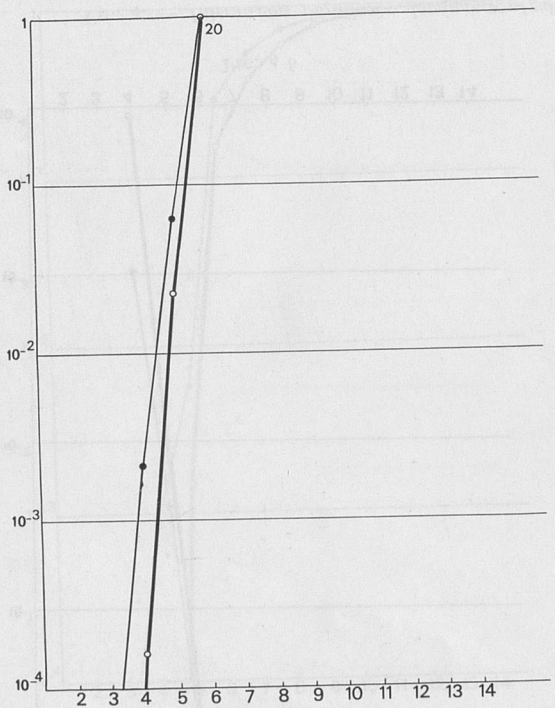


FIG. 3 *b*

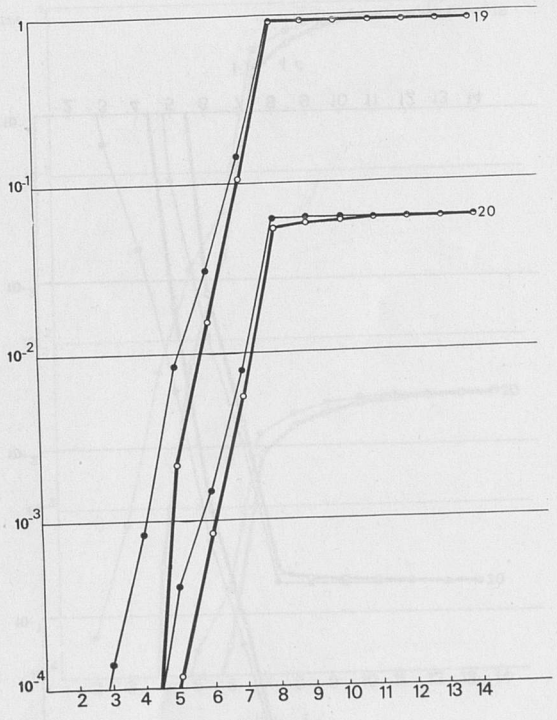


FIG. 3 *c*

FIG. 3. — *Absence d'interaction : additivité*

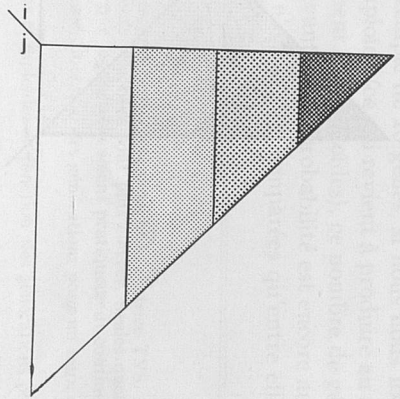


FIG. 4 *a*

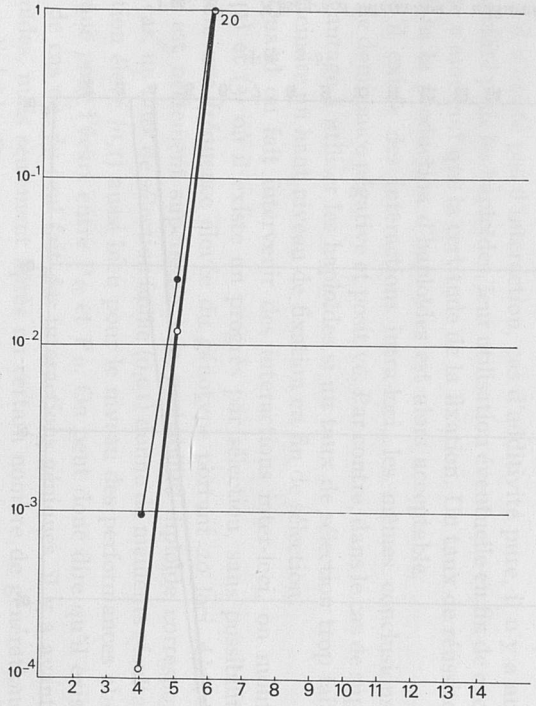


FIG. 4 *b*

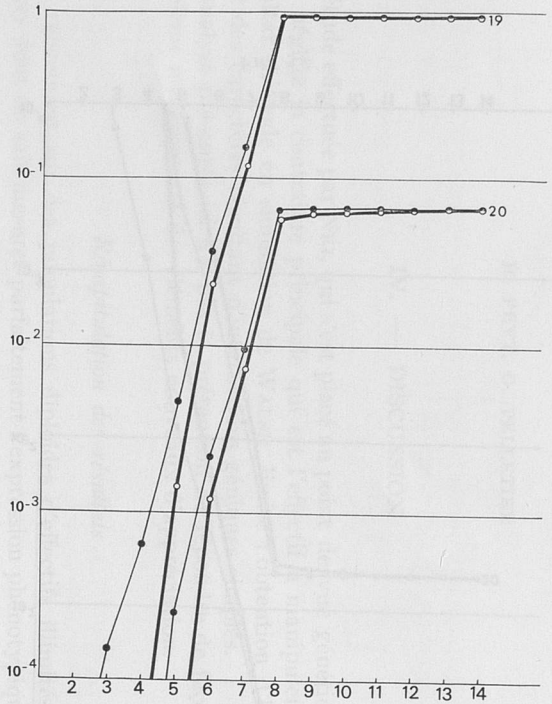


FIG. 4 *c*

FIG. 4. — *Interactions intra-loci : dominance négative*

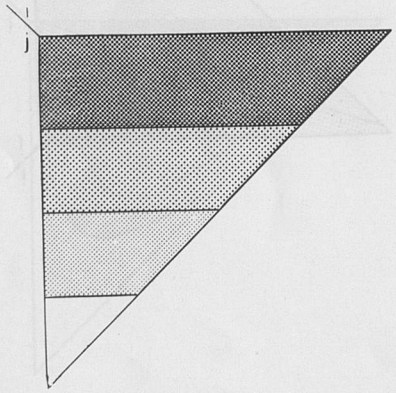


FIG. 5 *a*

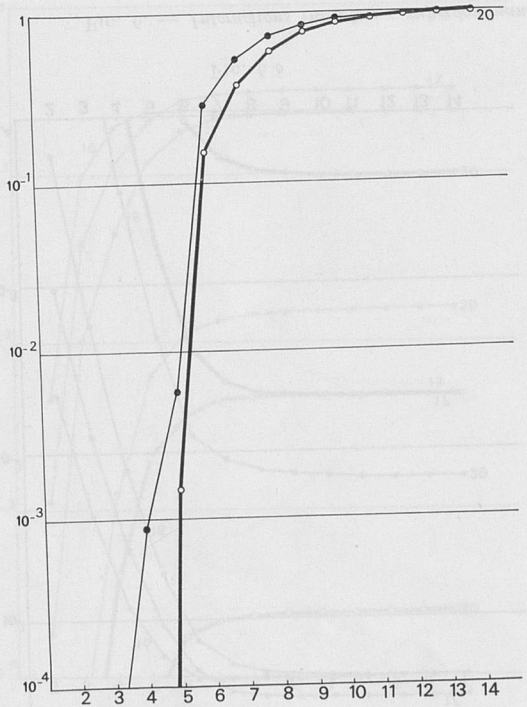


FIG. 5 *b*

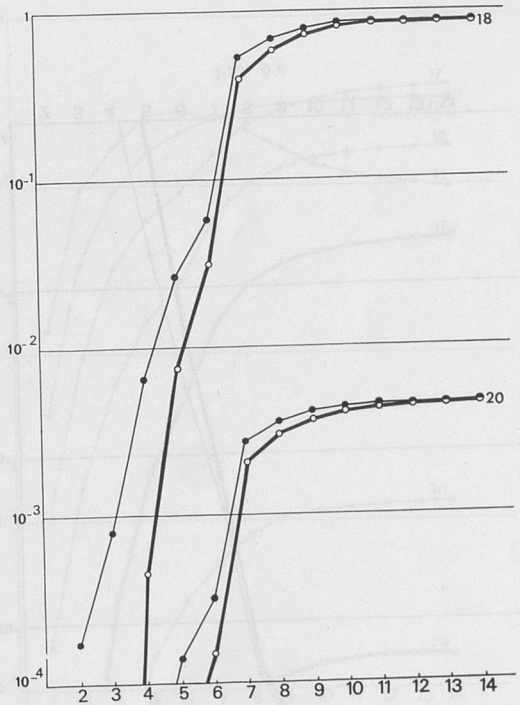


FIG. 5 *c*

FIG. 5. — *Interactions intra-loci : dominance positive*

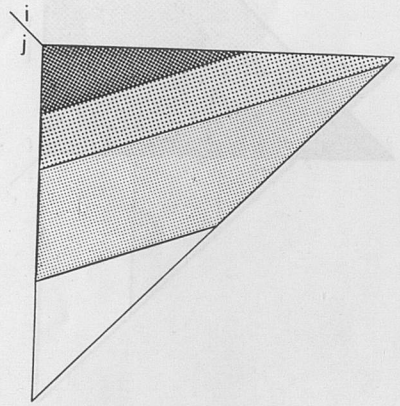


FIG. 6 *a*

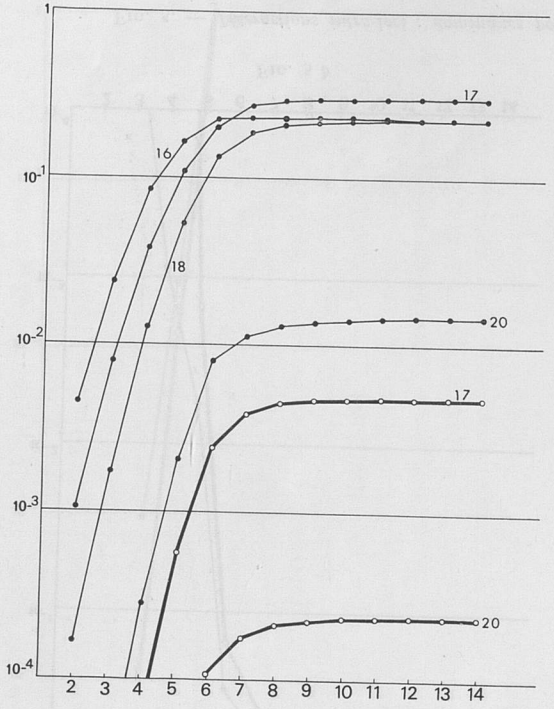


FIG. 6 *b*

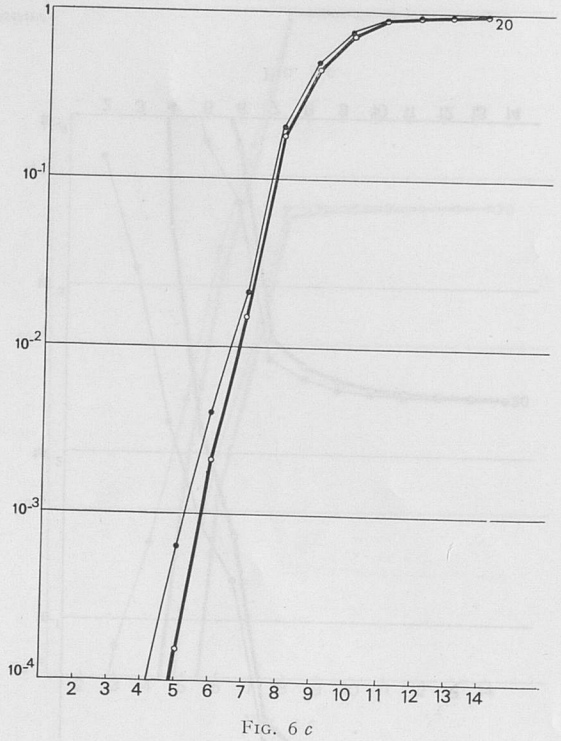


FIG. 6 *c*

FIG. 6. — *Interactions intra-loci : superdominance*

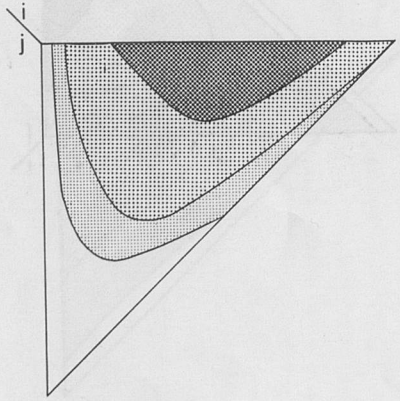


FIG. 7 *a*

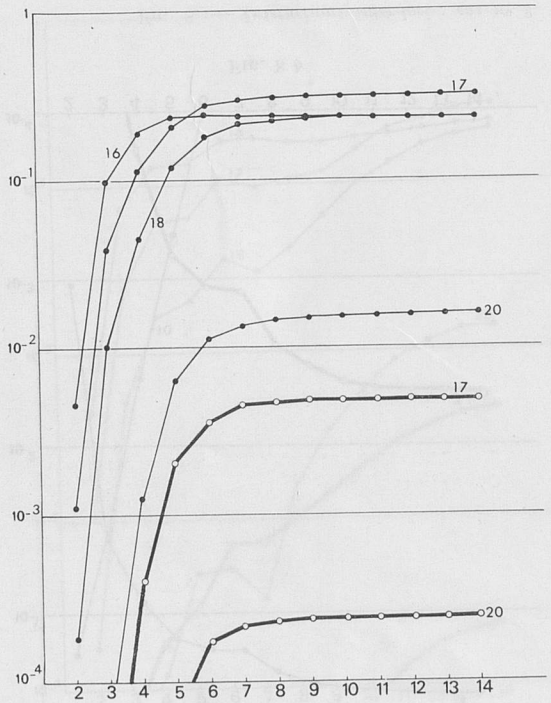


FIG. 7 *b*

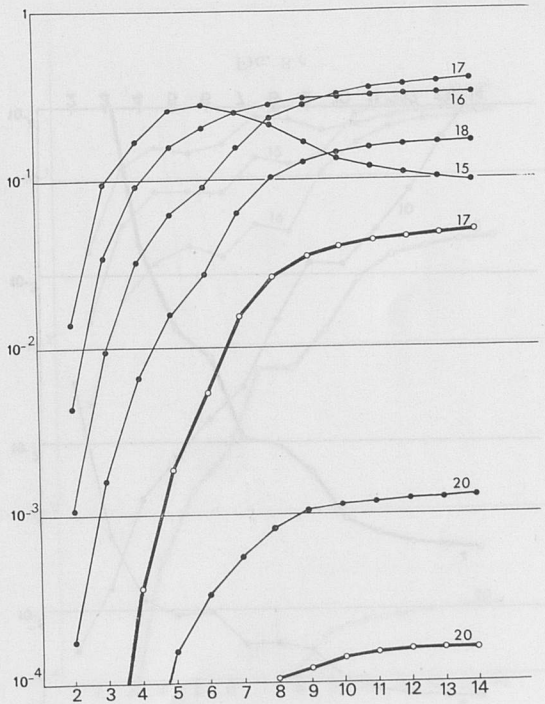


FIG. 7 *c*

FIG. 7. — *Interactions inter-loci : cas n° 1*

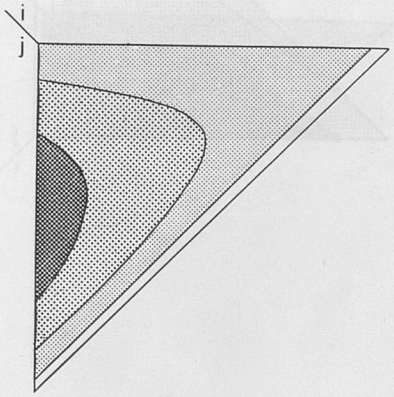


FIG. 8 *a*

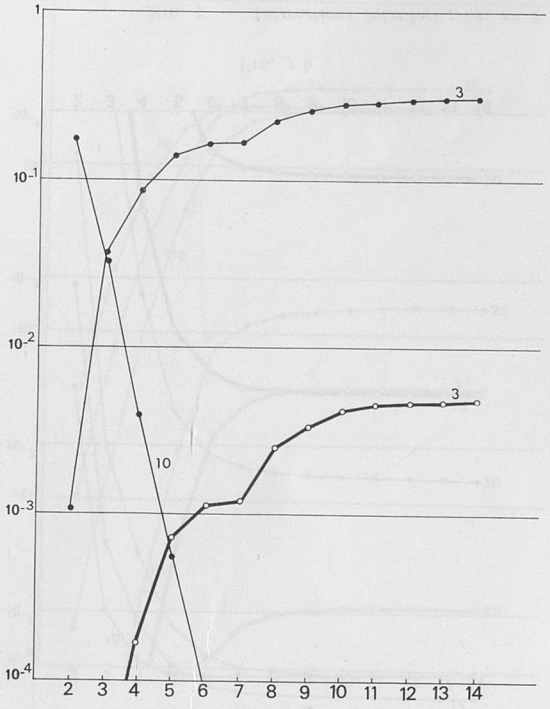


FIG. 8 *b*

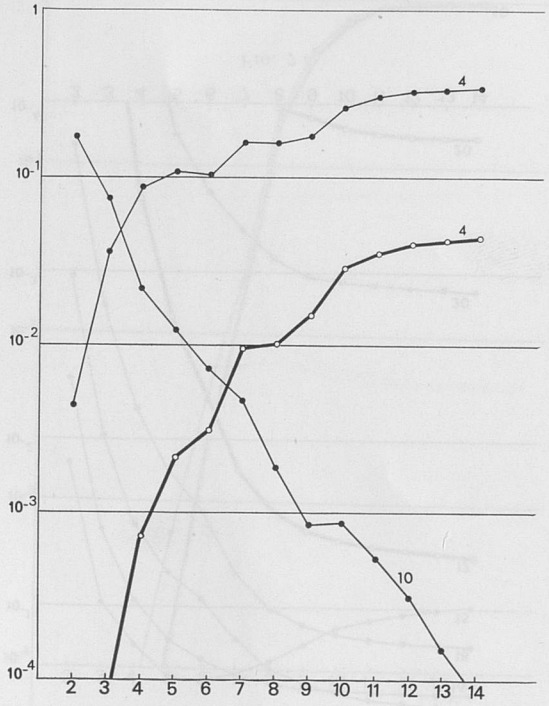


FIG. 8 *c*

FIG. 8. — *Interactions inter-loci : cas n° 2*

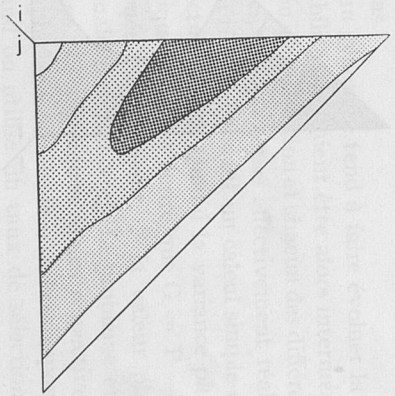


FIG. 9 *a*

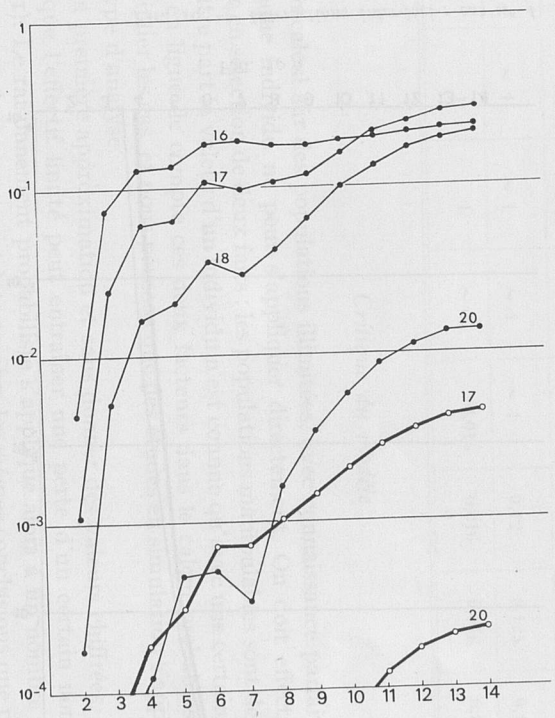


FIG. 9 *b*

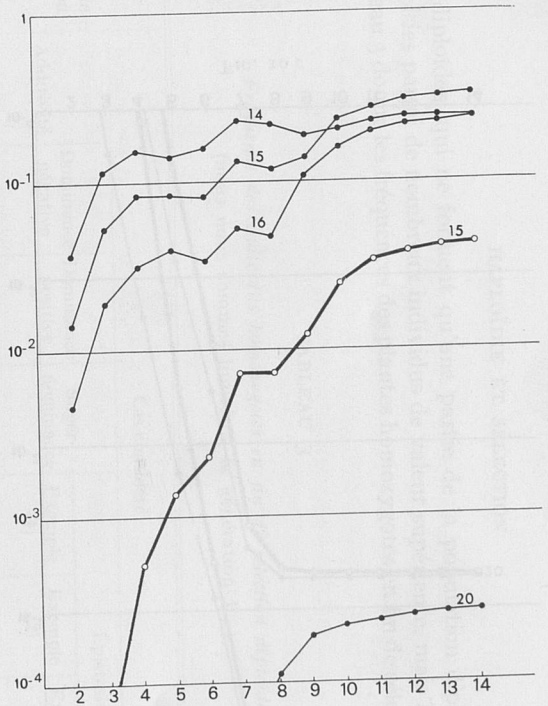


FIG. 9 *c*

FIG. 9. — *Interactions inter-loci : cas n° 3*

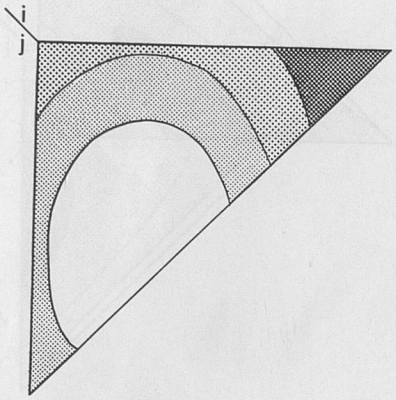


FIG. 10 *a*

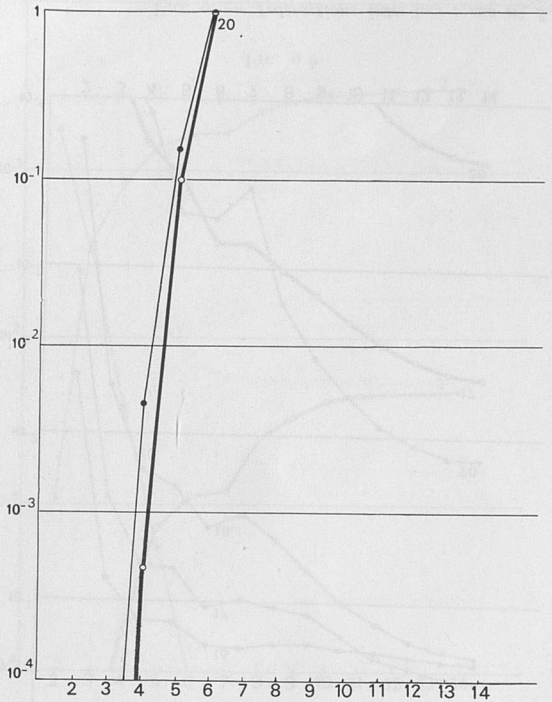


FIG. 10 *b*

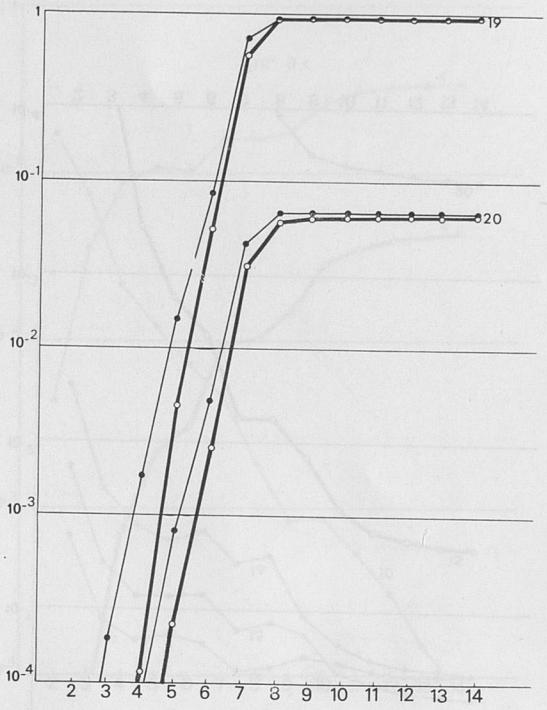


FIG. 10 *c*

FIG. 10. — *Interactions inter-loci : cas n° 4*

lignées diploïdes, qui ne forment qu'une partie de la population diploïde, doivent être choisies parmi de nombreux individus de valeur supérieure, mais hétérozygotes. Le tableau 3 donne les fréquences des plantes homozygotes en fin de sélection diploïde (F_{14}).

TABLEAU 3

Fréquence des individus homozygotes en fin de sélection diploïde
(nous nous sommes limités à la génération F_{14})

Taux de sélection	Cas considéré							
					Épistasies			
	Additivité	Dominance négative	Dominance positive	Super-dominance	Exemple (1)	Exemple (2)	Exemple (3)	Exemple (4)
0,1	~ 1	~ 1	~ 1	~ 1	0,12	0,125	0,125	~ 1
0,01	1	1	~ 1	0,016	0,016	0,016	0,015	1

Critique du modèle

Un calcul sur des populations illimitées, avec connaissance parfaite des valeurs de chaque individu ne peut s'appliquer directement. On doit effectivement tenir compte en sélection de deux faits : les populations manipulables sont de taille réduite, et d'autre part la valeur d'un individu n'est connue qu'avec une certaine erreur. Faire entrer en ligne de compte ces deux facteurs dans le calcul probabiliste reviendrait à multiplier les cas, et nous pensons que des études en simulation s'appliquent mieux à ce type d'analyse.

En première approximation et sans donner des valeurs chiffrées, on voit facilement que l'effectif limité peut entraîner une perte d'un certain nombre de gènes (tabl. 1). Le raisonnement probabiliste s'applique alors à un nombre plus réduit de gènes, et entraîne par rapport à ce nombre les mêmes conclusions que précédemment, respectivement pour chacun des cas.

L'erreur sur l'appréciation d'un génotype tend à faire évoluer la population au hasard, et les évolutions des probabilités devraient être alors intermédiaires entre le cas de générations d'autofécondation sans sélection et chacun des différents cas traités. Le taux de sélection choisi, dans ce cas, n'est pas effectivement réalisé et il ne lui correspond aucun taux de sélection réel. Cependant un calcul simple donne une idée de la déformation du taux de sélection choisi. Quand la variance phénotypique est plus grande que la variance génétique, on peut écrire que $G = P - E$ où G est la valeur génétique supposée distribuée normalement, P la valeur phénotypique de variance σ_P^2 et E, une variable normale de variance σ_E^2. Le problème étant ainsi posé, on peut calculer pour des variances phénotypiques égales respectivement à 1,5, 2, 3 et 4 fois la variance génétique, à quel taux de sélection réel correspond la plus petite valeur génétique sélectionnée quand on utilise un taux de sélection phénotypique

de 10 p. 100 ou 1 p. 100 (tabl. 4). On voit que dans ces conditions, à un taux de sélection phénotypique de 0,01 correspond un taux de sélection de 5 p. 100 environ qui varie peu en fonction de la variance due au milieu. Au contraire, un taux de sélection phénotypique élevé : 0,10 entraîne au niveau génétique une sélection d'autant moins efficace que la variance due au milieu est importante. Or nous avons vu que les haploïdes étaient d'autant plus intéressants en eux-mêmes et/ou par rapport aux diploïdes que le taux de sélection est plus faible. L'intérêt des haploïdes qui pour se révéler nécessite l'obtention de ceux-ci après la F_1 est réduit par l'erreur sur l'appréciation du génotype.

TABLEAU 4

Déformations des taux de sélection réels en fonction des effets dus au milieu

Seuil phénotypique	Variance environnementale / Variance phénotypique				
	$\frac{0}{1}$	$\frac{0,5}{1,5}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{2}{3}$	$\frac{3}{4}$
0,1	0,1	0,34	0,43	0,54	0,61
0,01	0,01	0,045	0,05	0,045	0,035

Enfin le nombre de gènes mis en jeu, qui est arbitraire, peut paraître élevé. Il s'applique mieux à des caractères à hérédité quantitative, distribués quasi normalement, ce qui justifie le fait que tous ont été considérés comme équivalents. Pour des caractères à hérédité simple (mono, bi, ou tri-factorielle) le problème de l'utilité des haploïdes ne se pose pas puisque les probabilités dans la F_2 de même que dans les haploïdes de la F_1 sont élevées. Pour des caractères gouvernés par un nombre légèrement plus grand de gènes (5 par exemple) les évolutions sont beaucoup plus rapides que pour 20 gènes mais de même type.

V. — CONCLUSION

Nous avons tenté de définir l'intérêt des haploïdes au cours des cycles d'autofécondation et de sélection, en faisant varier principalement les modes d'action géniques et en tenant compte d'effectifs limités par les techniques actuelles d'obtention d'haploïdes doublés.

L'évolution en probabilité des générations successives d'autofécondation et de sélection à partir d'un génotype hétérozygote pour 20 loci indépendants montre deux types principaux d'évolution qui amènent un progrès par rapport à la valeur moyenne des individus haploïdes doublés issus de la F_1. Dans certains cas (additivité

dominance négative ou positive, épistasie), les populations diploïdes évoluent vers le meilleur génotype homozygote possible. La probabilité d'obtention de ce génotype au niveau haploïde est à chaque génération inférieure à la même probabilité au niveau diploïde à la génération suivante pour des taux de sélection de 0,1 ou 0,01. Dans ce cas la seule justification des haploïdes est la fixation complète pour l'ensemble des caractères non sélectionnés, et une fréquence faible d'obtention d'haploïdes est alors acceptable (un haploïde suffit en principe). Dans d'autres cas (superdominance et certaines interactions inter-loci), une sélection sur les générations successives d'autofécondation entraîne un déplacement de la composition génétique de la population par rapport à la F_1, mais ne permet pas de fixer au niveau diploïde. L'utilisation des haploïdes quand un nouvel équilibre est atteint se justifie alors car elle permet de fixer des génotypes de bonne valeur génétique hautement improbables si on cherche à les obtenir par des haploïdes tirés de la F_1, très improbables dans les générations diploïdes d'autofécondation où ils sont de plus difficiles à discerner dans une population encore très hétérozygote. On peut proposer l'utilisation suivante des haploïdes quels que soient les facteurs génétiques qui interviennent dans le caractère sélectionné, ils devraient permettre, obtenus en nombre réduit à chaque génération, de mesurer le progrès accompli par la sélection au niveau diploïde, celle-ci devant se poursuivre tant que la valeur moyenne des haploïdes augmente. Les lignées définitives seraient choisies alors, dans un échantillon d'haploïdes d'autant plus large que les populations diploïdes à l'équilibre sont plus hétérozygotes.

La méthode haploïde limitée à l'utilisation de la F_1 est équivalente à la sélection au hasard (Single Seed Descent). Dans le cas où l'héritabilité au sens large $\left(\frac{\sigma^2_G}{\sigma^2_E}\right)$ est faible, la simulation montre que la méthode SSD peut s'avérer supérieure à d'autres méthodes, du seul fait qu'elle permet de manipuler dès le début un plus grand nombre de lignées potentielles (Casali and Tigchelaar, 1975). Dans la pratique, des exemples montrent en particulier quand il s'agit de caractères comme le rendement que la sélection au hasard permet d'obtenir des lignées équivalentes ou supérieures aux méthodes classiques (Boerma and Cooper, 1975). Cette méthode paraît *a priori* supérieure à la méthode haploïde limitée à la F_1 (qui présente l'avantage de la rapidité) car elle permet actuellement de manipuler des effectifs plus importants de lignées potentielles. Les techniques d'obtention d'haploïdes doublés devraient être améliorées jusqu'à fournir des effectifs comparables à une F_2 pour trouver leur pleine utilisation dans ce cas.

Dans les cas où la variance génétique comporte une part importante de variance d'interactions, qui conduit la population diploïde en autofécondation vers un équilibre entre des génotypes non fixés, l'utilisation de la sélection au hasard, à partir de ce moment, allongerait énormément le programme de sélection. L'obtention d'haploïdes doublés peut se justifier par la rapidité de fixation.

D'autres développements sur l'utilisation des haploïdes en sélection sont nécessaires. En particulier le cas des plantes allogames (ou des plantes autogames chez lesquelles on cherche à commercialiser des semences hybrides) pose différemment les problèmes.

Certaines stratégies génétiques nouvelles peuvent trouver dans l'haploïdie une mise en œuvre économiquement raisonnable, si l'on tient compte de contraintes matérielles comme la surface des parcelles de sélection, la main-d'œuvre, le temps

réel d'obtention. Quoi qu'il en soit une inconnue demeure, tant qu'une expérience de la production d'haploïdes n'est pas acquise et en particulier des haploïdes androgénétiques : résultent-ils bien d'un tirage au hasard des gamètes?

Reçu pour publication en août 1975.

SUMMARY

HAPLOIDY AND SELECTION. PROBABILITIES EVOLUTION OF HAPLOID GENOTYPES OUT OF INFINITE DIPLOID POPULATION UNDER SELFING AND SELECTION CYCLES

In an autogamous species a comparison between haploid method and selection by selfing has been made in respect of probability with unlimited diploid population.

The sources of variation were :

— the rank of the generation from which haploids were obtained,
— selection rate at diploid level,
— genic interactions conditionning the various genotypes values.

Without environmental error, a larger efficiency of haploids is settled up only when there are genic interactions (overdominance and epistasis), when diploid population is in equilibrium and constitued with still highly heterozygous individuals. The lower is the selection rate, the higher is the advantage.

In first approximation, environmental error is confounded with an increase of selection rate. At limit, when diploid selection is inefficient, we can get haploids from the F_1, as far as a large number of doubled haploids can be obtained (about a F_2 number), which are equivalent to a random selection. One of haploids interest for which they should be produced after F_1 is limited by environmental error.

A question is raised to actually achieve whether androgenetic haploids represent a random sample of gametic array. Other development should be needed to evaluate the use of haploid in other improvement strategies than that here presented.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Boerma H. R., Cooper R. L., 1975. Comparison of three selection procedures for yield in Soybeans. *Crop. Sci.*, **15** (2), 225-229.

Casali V. W. D., Tigghelaar E. C., 1975. Computer simulation studies comparing pedigree, bulk, and single seed descent selection in self pollinated populations. *J. Amer. Soc. hort. Sci.*, **100** (4), 364-367.

Doré C., 1974. Production de plantes homozygotes mâles et femelles à partir d'anthères d'Asperge cultivées *in vitro* (*Asparagus officinalis* L.). *C. R. Acad. Sci.*, Paris, **278**, série D, 2135-2138.

Nei M., 1963. The efficiency of haploid method of plant breeding. *Heredity*, **18**, 95-100.

Melchers G., 1972. Haploid higher plants for plant breeding. *Z. Pflanzenzüchtg*, **67**, 19-32.

Pelletier *et al.*, 1972. La culture *in vitro* d'anthères d'Asperge (*Asparagus officinalis* L.). *C. R. Acad. Sci.*, Paris, **274**, Série D, 848-851.

Thévenin L., 1968. Les problèmes d'amélioration chez *Asparagus officinalis* L. II. Haploïdie et amélioration. *Ann. Amélior. Plantes*, **18** (4), 327-365.

Walsh E. J., 1974. Efficiency of the haploid method of breeding autogamous diploid species : a computer study. *Proc. 1st intern. Symp.* « *Haploids in Higher Plants* ». University of Guelph, 195-209.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (3), 387-418.

OBTENTION DE VARIÉTÉS DE MAÏS « PROLIFIQUES EN ÉPIS » PRODUCTIVES EN GRAIN ET A LARGE ADAPTATION ÉCOLOGIQUE

Ch. BERTIN (†), A. PANOUILLÉ et S. RAUTOU*

avec la collaboration technique de M. DUPIN, J. VIVARES, J. COGNOT* et B. FRESNAY*

Station expérimentale du Maïs,
40590 Saint-Martin-de-Hinx,

* *Station d'Amélioration des Plantes de Montpellier,*
Centre de Recherches de Montpellier, I. N. R. A.,
34060 Montpellier Cedex

RÉSUMÉ

L'obtention de variétés de maïs-grain prolifiques en épis permettrait de rehausser et de régulariser le niveau de production en grain des hybrides actuels.

Les auteurs, après avoir situé dans le cycle évolutif du Maïs le moment où débute la différenciation des inflorescences femelles, étudient le développement et la croissance de celles-ci comparativement à ceux de l'inflorescence mâle. Ils concluent, d'après leurs observations, que pour obtenir des lignées prolifiques en épis, le sélectionneur doit choisir les plantes dont les floraisons des inflorescences femelles se succèdent rapidement dans le temps, et si possible encadrent la floraison mâle. Les auteurs recherchent un test plus précoce de sélection des lignées « prolifiques », et étudient pour cela la liaison existant entre la prolificité en épis et la forte activité enzymatique de la nitrate-réductase.

Pour mieux juger l'importance de la participation du génotype à l'expression de la prolificité en épis, les auteurs examinent l'influence sur ce caractère des facteurs du milieu. Les variétés « prolifiques » comparativement aux variétés « normales », possèdent un plus fort pouvoir de compétition pour la lumière et supportent mieux les densités de peuplement élevées, composante importante du rendement en grain. Les auteurs ont mis au point un indice de prolificité qui permet de classer efficacement le matériel végétal pour ce caractère.

L'héritabilité de la prolificité en épis variant avec les facteurs du milieu, les auteurs indiquent une méthodologie pour sélectionner des lignées vraiment « prolifiques ». Ils estiment, qu'en l'état actuel de leurs connaissances, le caractère polygénique, « prolificité en épis » est soumis aux lois de l'hérédité quantitative.

Puis ils décrivent ensuite la méthode de sélection utilisée pour l'obtention d'hybrides prolifiques en épis, et signalent l'intérêt de la méthode de sélection réciproque « full sib » mise au point par HALLAUER. L'amélioration de caractères indésirables liés à la prolificité en épis, telle que la taille réduite des épis, est entreprise sous plusieurs aspects.

Les premiers résultats concernant les performances en combinaison hybride des lignées prolifiques obtenues par les auteurs, sont donnés. Ils sont prometteurs.

Au cours des dernières décennies, les progrès concernant l'amélioration de la productivité en grain de variétés de maïs ont été particulièrement lents. Les causes les plus souvent invoquées pour expliquer ce fait sont : une prospection insuffisante de la variabilité génétique, un jugement imparfait de l'interaction génotype × milieu, des méthodes de sélection peu efficaces, une connaissance insuffisante de la biologie de la plante... En ce qui concerne ce dernier point l'amélioration de l'efficacité de la protéosynthèse, et peut-être, indirectement, celle de la photosynthèse, grâce à l'obtention de variétés prolifiques en épis, semble être une voie intéressante à suivre.

INTRODUCTION

Une variété prolifique en épis se distingue par l'aptitude à donner, en conditions favorables, au moins un deuxième épi par plante dont l'importance peut égaler celle de l'épi primaire.

A ses débuts, l'amélioration variétale du maïs-grain a été orientée vers l'obtention de variétés ne possédant qu'un épi par plante en vue de faciliter la récolte manuelle ; or, actuellement, cette opération est mécanisée et le rendement des machines, notamment du corn sheller, ne souffre pas de la présence de plusieurs épis par tige.

L'utilisation de variétés « prolifiques », en raison de leur plus grande adaptabilité aux conditions variées de milieu peut régulariser le niveau du rendement en grain dans l'espace et dans le temps, et peut-être rehausser le niveau de celui-ci.

Dès 1959, la Station d'Amélioration des Plantes de Montpellier et la Station expérimentale du Maïs de Saint-Martin-de-Hinx se sont intéressées à l'amélioration de la prolificité en épis des variétés (RAUTOU, 1963) ; mais c'est surtout à partir de 1969 que les travaux ont été développés.

La matière de cet article intéressant la physiologie, la génétique, la sélection, nous essaierons donc, pour chacune de ces parties, de rassembler les connaissances récemment acquises, puis nous donnerons les résultats de nos travaux dans ce domaine et nous indiquerons les perspectives d'avenir.

I. — DÉVELOPPEMENT ET CROISSANCE DU MAÏS

Cycle évolutif de la plante

Le cycle évolutif d'une plante de maïs comprend plusieurs périodes. Lors de la période végétative, dans la phase semis-levée, la semence germe en émettant les racines séminales et le coléoptile. A la fin de cette phase la plantule s'affranchit ; elle passe de l'état hétérotrophe à un état partiellement autotrophe quand le coléoptile sort de terre pour permettre l'apparition de la feuille. Dans la phase suivante, qui va de la levée jusqu'à la différenciation des toutes premières ébauches des inflorescences, le méristème apical développe le système foliaire de la plante.

La période de reproduction, qui succède, comporte plusieurs phases : phase de différenciation des inflorescences, phase de croissance, phase floraison-fécondation. Le développement des inflorescences commence par celui de l'inflorescence mâle

(panicule) et se poursuit par celui des inflorescences femelles. Les inflorescences femelles proviennent de la croissance de bourgeons axillaires situés à l'aisselle de certaines feuilles. C. M. MESSIAEN (1963) distingue, selon le devenir des bourgeons axillaires, quatre zones le long de la tige :

— la zone des talles : les bourgeons des entrenœuds souterrains et de ceux proches de la surface du sol émettant chacun une ramification appelée talle ;
— la zone médiane : les bourgeons axillaires sont inhibés ;
— la zone des épis : les bourgeons développent des inflorescences femelles ;
— la zone des entrenœuds supérieurs qui sont dépourvus de bourgeons.

Pendant la phase de croissance ou phase de transition, selon BONNETT (1953), les différents organes croissent pour atteindre leurs dimensions définitives lorsque se déclenche l'émission du pollen. La croissance de la tige débute quand le développement de l'inflorescence mâle est déjà bien avancé, et plus que celui des inflorescences femelles. Au début de cette phase, le maïs ne possède pas de substances de réserves dans ses racines et d'autre part sa tige est trop réduite pour en accumuler. Aussi la croissance des organes, en particulier celle des inflorescences femelles (composante importante de la productivité en grain) ainsi que la méiose sont-elles très influencées non seulement par le génotype mais encore par les facteurs du milieu : lumière, température, eau, éléments nutritifs. Cette phase de croissance représente donc une période critique pour l'évolution finale de la plante.

La phase floraison-fécondation débute avec le commencement de l'émission du pollen qui se produit avant la sortie des premiers stigmates, Le Maïs est en effet une plante protandre. L'inflorescence femelle supérieure fleurit la première. La floraison intéresse ensuite les inflorescences femelles des étages inférieurs avec des décalages plus ou moins importants selon le génotype et les facteurs du milieu. La floraison des inflorescences les plus inférieures ne peut être induite qu'en supprimant précocement les inflorescences supérieures avant que leurs fleurs ne soient fécondées.

La période de maturation peut être subdivisée en trois phases (RAUTOU, 1949). Pendant la première, qui suit la fécondation et dont la durée est de 15 à 20 jours, on observe la multiplication cellulaire active de l'albumen et la différenciation de la radicule et de la gemmule de l'embryon. Pendant la phase suivante, caractérisée par un poids constant de l'eau contenue dans le grain, les glucides s'accumulent dans l'albumen et la croissance de l'embryon s'intensifie. Une alimentation réduite en eau survenant pendant cette phase se traduit par l'échaudage du grain qui entraîne une baisse de la productivité de la plante. La phase de dessiccation débute lorsqu'ont cessé les migrations des substances de réserves vers le grain. La teneur en eau du grain, alors de 35 à 40 p. 100, diminue par la suite.

Études portant sur la physiologie des maïs prolifiques en épis

Développement et croissance des inflorescences femelles d'une plante.

Le développement et la croissance des inflorescences femelles comparativement à ceux de l'inflorescence mâle de la lignée F 502, portant normalement un épi par plante, et de la lignée FFB 86-2, relativement prolifique en épis, ont été étudiés.

Le nombre d'ébauches d'épis (inflorescences et spathes) avant la floraison, est plus élevé chez la lignée F 502, mais après ce stade on observe un avortement plus

FIG. 1. — *Lignée prolifique en épis* F 576 *au stade floraison*

TABLEAU I

Répartition des produits de la photosynthèse vers les inflorescences femelles d'une lignée « normale » et d'une lignée « prolifique »

(TSOTSIS, 1972)

Type de lignée	Pourcentage de produits de la photosynthèse marqués au ^{14}C	
	inflorescence primaire	inflorescence secondaire
Lignée normale à 1 épi :		
— densité de peuplement moyenne .	43	—
— densité de peuplement faible.....	45	14
Lignée « prolifique en épis » :	—	
— densité de peuplement moyenne..	25	27

rapide des ébauches des étages inférieurs que chez la lignée FFB 86-2. Chez cette dernière, l'ébauche située au-dessous de l'ébauche supérieure continue à croître quinze jours après la floraison femelle de l'inflorescence supérieure. Cette observation peut trouver une explication dans le fait que les variétés prolifiques en épis peuvent développer un système vasculaire ou posséder des caractéristiques biochimiques qui les rendent capables d'alimenter avec une égale intensité les deux épis (EASTIN, 1972). L'inflorescence secondaire de la lignée normale n'évolue pas en raison d'une translocation insuffisante des produits résultant de la photosynthèse ou pour d'autres causes. TSOTSIS (1972), vérifie cette hypothèse en étudiant la répartition des produits de la photosynthèse — marqués par du carbone 14 — vers les inflorescences femelles (tabl. 1).

Ces données trouvent un complément dans les résultats (tabl. 2 et 3), obtenus

TABLEAU 2

Nombre moyen de grains des épis d'une lignée « normale » F 502 *et d'une lignée « prolifique »* FFB 86-2 *peu après la floraison ; densité de peuplement faible : 3,17 plantes au mètre carré*

(Saint-Martin-de-Hinx, 1969)

Type de lignée	Épi	Nombre de grains	% de grains par rapport à l'épi primaire
Lignée « normale » F 502	primaire	399	100
	secondaire	300	75
Lignée « prolifique » FFB 86-2	primaire	341	100
	secondaire	326	95

TABLEAU 3

Évolution du poids du grain en grammes de matière sèche

(Saint-Martin-de-Hinx, 1969)

Type de lignée	Nombre de jours après la floraison						
	+ 21	+ 30	+ 40	+ 50	+ 55	+ 60	+ 70
Lignée « normale » F 502 :							
– épi primaire	14,0	42,8	56,1	64,4	74,1	75,1	76.4
Lignée « prolifique » FFB 86-2 :							
– épi primaire	14,5	31,3	41,8	51,2	51,0	50,9	50,9
– épi secondaire	6,8	22,9	30,6	34,6	39,0	33,1	37,9
– total épis	21,3	54,2	72,4	85,8	90,0	84,0	88,8
– pourcentage : $\frac{\text{épi secondaire}}{\text{total épis}}$	31,9	42,3	42,3	40,3	43,3	39,4	42,7

en 1969 à la Station expérimentale du Maïs de Saint-Martin-de-Hinx, concernant le nombre de grains présents peu après la floraison et l'évolution du poids du grain au cours de la maturation de la lignée « normale » F 502 et de la lignée relativement prolifique en épis FFB 86-2 et qui met en évidence une meilleure nutrition de l'épi secondaire de la lignée prolifique en épis.

En se reportant au tableau 4, on constate que le nombre de grains et le poids de 1 000 grains de l'épi secondaire de la lignée prolifique en épis FFB 86-2 ne sont que légèrement inférieurs à ceux de l'épi primaire.

TABLEAU 4

Évolution du poids de 1 000 grains, en grammes de matière sèche, densité de peuplement faible : 3,17 plantes au mètre carré

(Saint-Martin-de-Hinx, 1969)

Type de lignée	Nombre de jours après la floraison						
	+ 21	+ 30	+ 40	+ 50	+ 55	+ 60	+ 65
Lignée « normale » F 502	44	118	178	208	225	255	241
Lignée « prolifique » FFB 86-2 (1) :							
– épi primaire	51	114	161	207	210	178	172
– épi secondaire	34	100	128	165	179	140	145

(1) Nombre de grains : épi primaire = 287, épi secondaire = 249.

Dans le cas de la lignée prolifique en épis, la teneur en eau des grains est toujours plus élevée de 2 à 3 points dans l'épi secondaire que dans l'épi primaire jusqu'au moment où le grain de l'épi primaire atteint sa maturité physiologique c'est-à-dire parvient au seuil de 35 p. 100 d'eau, 50 à 65 jours après la floraison femelle (tabl. 5) ; ensuite les écarts entre les taux d'humidité du grain des deux épis s'amoindrissent avec le temps.

TABLEAU 5

Évolution de la teneur en eau du grain, exprimée en p. 100, des épis de différents étages de la lignée « prolifique » FFB 86-2

(Saint-Martin-de-Hinx, 1969)

	Nombre de jours après la floraison						
	+ 21	+ 30	+ 40	+ 50	+ 55	+ 60	+ 70
Épi primaire	69	56	47	39	34	33	25
Épi secondaire	75	58	50	42	36	33	26

En 1970, l'écart entre la date de floraison de l'inflorescence mâle et des inflorescences femelles a été noté sur une série de lignées « normales » et une série de lignées « prolifiques ». Les notations sont reportées dans le tableau 6 où les lignées ont été classées d'après leur prolificité en épis, mesurée par le nombre d'épis pour 100 plantes. Dans le tableau 7 nous avons indiqué, pour la plupart de ces lignées, l'écart entre les

TABLEAU 6

Écart, en jours, entre les dates de floraison des inflorescences femelles des différents étages par rapport à la date de la floraison mâle

(Saint-Martin-de-Hinx, 1970)

Type de lignée et lignée	Nbre d'épis pour 100 plantes	Date de la floraison mâle	Écart, en jours, entre la floraison femelle et la floraison mâle		
			inflorescence primaire	inflorescence secondaire	inflorescence tertiaire
Lignée « normales » :					
B 37	131	10,0/8	+ 1,52	+ 6,67	—
F 502	108	30,3/7	+ 1,67	+ 4,43	—
F 562	106	4,9/8	+ 1,83	+ 4,73	—
C 103	106	9,6/8	+ 5,88	+ 9,48	—
A 427	83	1,6/8	+ 5,61	—	—
Lignées « prolifiques » :					
F 576	714	14,0/8	+ 2,44	+ 2,40	+ 3,46
Yu 1071	269	5,2/8	— 0,64	+ 0,38	+ 1,74
F 520	200	3,0/8	+ 2,02	+ 3,66	+ 6,94
FFB 86-2	194	29,8/7	+ 2,16	+ 3,22	+ 5,02
Oh 07 B	192	17,8/8	+ 6,67	+ 8,85	—

TABLEAU 7

Comparaison entre l'écart, en jours, des dates de floraison des inflorescences femelles primaire et secondaire et l'écart, en centimètres, des longueurs de ces épis

Lignée « normale »			Lignée « prolifique »		
	Écart en jours, entre les floraisons	Écart en cm, des longueurs entre épis		Écart en jours, entre les floraisons	Écart en cm, des longueurs entre épis
F 502	+ 2,8	— 8,5	F 576	0,0	— 0,2
F 562	+ 2,9	— 6,4	Yu 1071	+ 1,0	— 2,9
C 103	+ 3,6	— 10,3	FFB 86-2	+ 1,1	— 2,6
B 37	+ 5,2	— 13,0	F 520	+ 1,6	— 2,7
			Oh 07 B	+ 2,2	— 5,0
Moyenne	+ 3,6	—	*Moyenne*	+ 1,2	—

dates de floraison des deux inflorescences femelles, celle de l'étage supérieur et celle de l'étage immédiatement inférieur, ainsi que l'importance de la réduction de la taille du deuxième épi par rapport à celle du premier.

L'examen de ces deux derniers tableaux montre le fait important suivant : l'écart qui existe entre les dates de floraison des deux premières inflorescences femelles est beaucoup plus petit chez les lignées « prolifiques » que chez les lignées « normales ». De même, la longueur de l'épi inférieur est d'autant moins réduite par rapport à celle de l'épi supérieur que les dates de floraison des inflorescences femelles sont plus proches (tabl. 7).

FIG. 2. — *Lignée prolifique en épis*
L'état de développement des stigmates des inflorescences primaire et secondaire est comparable

Pour sélectionner, au moment de la floraison, les plantes qui se révéleront prolifiques en épis à la maturité, il semble donc nécessaire de choisir celles où l'on n'observe pas ou peu de décalage entre les dates de floraison des inflorescences femelles successives. Pour que la prolificité en épis concerne le maximum d'inflorescences il faut que l'écart entre les dates de floraison des inflorescences extrêmes (supérieure et inférieure) soit le plus petit possible et encadre, si possible, la floraison mâle ; ce sont les

plantes protogynes qui doivent être choisies. On peut citer comme exemple la lignée Yu 1071 (tabl. 6). C'est aussi l'opinion d'ANDERSON (1971) qui conseille, pour sélectionner des plantes prolifiques en épis, de retenir les plantes dont la deuxième inflorescence femelle fleurit 2 à 3 jours avant la panicule mâle.

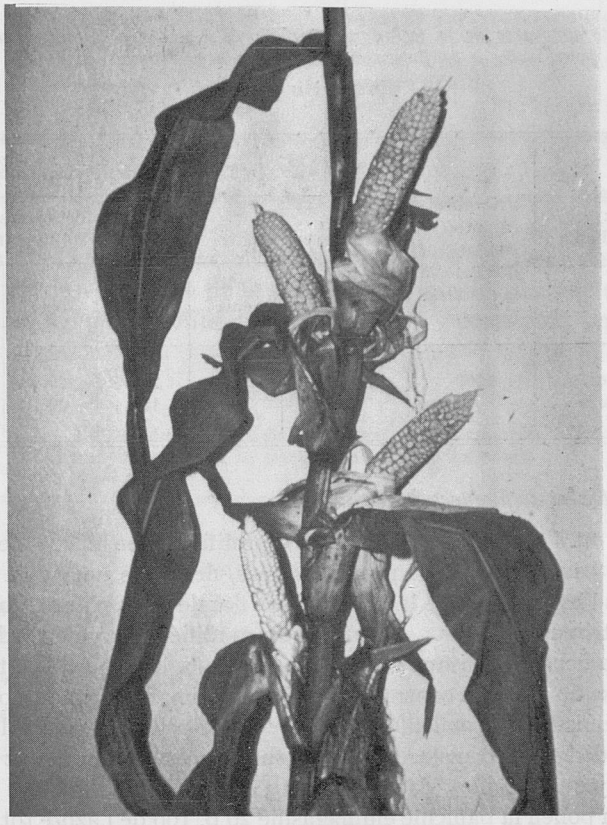


FIG. 3. — *Plante hybride prolifique en épis au stade fin de la maturation*
On note la participation importante des épis des étages inférieurs à la production de grain de la plante ainsi que la régularité de la taille des épis

Ces observations ont été utilisées pour mettre au point une technique permettant d'améliorer l'efficacité de la sélection des plantes prolifiques en épis dans du matériel végétal en disjonction pour ce caractère. Cette technique consiste à protéger par ensachage les deux inflorescences femelles d'une plante avant l'apparition des stigmates. L'autofécondation n'est effectuée que sur les plantes dont le stade de sortie des stigmates des deux inflorescences est comparable. Éventuellement, si le cas se présente, nous autofécondons aussi les plantes dont la deuxième inflorescence femelle fleurit au moment du début de l'émission du pollen.

L'efficacité de cette technique a été jugée comparativement à la technique classique, en l'appliquant à la population de pays « Millette de Finhan ». Malheureusement ce cultivar est relativement peu prolifique en épis et l'effectif prospecté avec la

technique « améliorée » s'est révélé insuffisant pour isoler à la floraison un nombre élevé de plantes dotées de cette caractéristique. Aussi les résultats reportés dans le tableau 8, bien que probants, sont-ils donnés à titre indicatif.

TABLEAU 8

Efficacité comparée de la technique « améliorée » et de la technique classique pour isoler à la floraison des lignées « prolifiques en épis »

(Saint-Martin-de-Hinx)

Population de pays prospectée : « Millette de Finhan »	1973 Nombre d'autofécondations effectuées à la floraison	1974. Étude des descendances					
		Nbre moyen d'épis pour 100 plantes	Pourcentage de lignées possédant pour 100 plantes :				
			< 100 épis	100-119 épis	120-139 épis	140-159 épis	⩾ 160 épis
Technique classique	109	116	23,9	26,6	29,4	12,8	7,3
Technique « améliorée » ..	13	142	0	15,4	30,7	15,4	38,5

Prolificité en épis et influences hormonales.

L'objectif est l'obtention de variétés « prolifiques en épis » ne différant pas, pour les autres caractéristiques morphologiques, des maïs normaux. Certains chercheurs ont émis l'hypothèse que la morphologie florale de la plante : importance de la panicule, répartition des sexes..., pourrait être modifiée en vue de réduire l'influence apicale de la panicule en faisant intervenir pour cela l'action de certains gènes. En effet l'expression du sexe est contrôlée par l'interaction d'un grand nombre de gènes.

Jusqu'à l'émission du pollen, la panicule est le principal point de croissance de la plante. Elle dirige les translocations des substances organiques et minérales vers elle et vers les jeunes feuilles. Ainsi SANFORD *et al.* (1964), signalent qu'au moment de l'émission du pollen la panicule emmagasine 20 p. 100 de l'azote totale de la plante tandis que la panicule de la version isogénique androstérile n'en contient que 10 p. 100. Une semaine auparavant la panicule renfermait 50 p. 100 de l'azote totale de la plante alors que la version isogénique androstérile n'en contenait que 2 p. 100. Des conditions défavorables à la croissance survenant dans les quinze jours qui précèdent l'anthèse affectent donc davantage les inflorescences femelles que la panicule.

La distribution des produits photosynthétiques vers les inflorescences femelles des différents étages d'une plante est meilleure chez les lignées « prolifiques en épis ». Cet état se maintient par la suite tout au long de la maturation. Ainsi le rapport entre le poids sec des épis et le poids sec de la tige, des feuilles et des spathes est constamment plus élevé chez la lignée « prolifique » FFB 86-2 que chez la lignée « normale » F 502 (tabl. 9).

Cette répartition des produits élaborés par la plante pourrait résulter d'actions diverses, en particulier d'un équilibre hormonal plus favorable et d'une activité enzymatique nitrate-réductase plus élevée chez les lignées « prolifiques en épis » comme cela a été signalé par ANDERSON.

TABLEAU 9

Évolution du rapport : poids sec épi/poids sec tige + feuille + spathes
(Saint-Martin-de-Hinx, 1969)

Type de lignée	Nombre de jours après la floraison							
	+ 14	+ 21	+ 28	+ 35	+ 42	+ 49	+ 56	+ 63
Lignée « normale » F 502	0,20	0,32	0,42	0,55	0,78	0,82	1,20	1,17
Lignée « prolifique » FFB 86-2 ..	0,23	0,41	0,62	0,63	1,08	1,10	1,42	1,45

Au moment de la floraison, la valeur du rapport du poids sec de la panicule au poids sec de la partie végétative de la plante a été calculée sur une série de lignées « normales » et de lignées « prolifiques en épis ». Ces valeurs sont reportées dans le tableau 10.

TABLEAU 10

Valeur du rapport du poids sec de la panicule au poids sec de la partie aérienne de la plante

Lignée « normale »		Lignée « prolifique en épis »	
F 502	0,0946	F 483 E (1)	0,0404
C 103	0,0686	Yu 1071	0,0449
WF 9	0,0786	T 115	0,0540
Oh 43	0,1150	F 576	0,0418
Moyenne	0,0892	*Moyenne*	0,0453

P.p.d.s. (0,05) = 0,0060.
(1) Lignée « prolifique en épis » apparentée à FFB 86-2.

On constate que le rapport est régulièrement plus bas chez les lignées « prolifiques en épis », d'environ 50 p. 100. Ce pourcentage est à rapprocher des résultats des études d'ANDERSON (1967 et 1971). Ce chercheur a déterminé la teneur en acide indolacétique des panicules de lignées « normales » et de lignées « prolifiques » et a constaté que la deuxième catégorie de lignées en contenait 50 p. 100 de moins. Pour lui, il y aurait dominance apicale, c'est-à-dire action défavorable pour l'expression de la prolificité en épis, lorsque les valeurs du rapport : acide gibbérellique contenu dans les feuilles sur acide indolacétique contenu dans les panicules s'écarteraient d'un certain seuil.

Prolificité en épis et activité enzymatique nitrate-réductase.

Des études, développées plus loin, portant sur le comportement de variétés soumises à des densités élevées de peuplement confirment que les variétés prolifiques en épis tolèrent mieux les forts peuplements que les variétés à un épi.

D'autre part les résultats de recherches comparant les réactions au manque de lumière, provoqué par l'usage d'écrans ou par la culture à forte densité de peuplement, montrent que les variétés tolérantes possèdent une activité nitrate réductase plus élevées que les autres (HAGEMAN et LENG, 1960 ; ZIESERL *et al.*, 1963).

En se basant sur ces deux constatations nous avons entrepris une étude comparative sur l'activité nitrate-réductase de lignées à un épi et de lignées prolifiques en épis en espérant que si des différences d'activité se révélaient au stade plantule, il serait possible de les utiliser pour déceler, en dehors de la période normale de la culture, des lignées prolifiques en épis.

Cette action impliquait la mise au point de la méthode d'analyse de la nitrate-réductase et l'étude de la validité de ce test pour déceler les variétés prolifiques en épis. Avec la collaboration de M. le professeur SALSAC et de M. ROBIN du Laboratoire de Biochimie-Physiologie de la Nutrition végétale de l'École nationale supérieure agronomique de Montpellier nous avons confié ces tâches à M. J. P. MULLER (1).

Les maïs ont été cultivés en terrines placées dans une enceinte climatisée sous les conditions suivantes : 16 heures d'éclairement par jour à 6 000 lux, température 22-23°C, état hygrométrique de 75 à 80. Les plantules ont été récoltées au stade 2 limbes dégagés (ligule visible) après avoir été soumises à 5 heures d'éclairement. Elles ont été conservées dans un bac à glace en attendant le moment de l'analyse. Après broyage au mortier de la partie aérienne, le broyat a été analysé selon la méthode mise au point par HAGEMAN et HUCKLESBY (1970).

Les premiers résultats de cette étude, portant sur un petit nombre de variétés, sont les suivants :

— on constate de grandes différences d'activité nitrate-réductase entre les lignées. Les valeurs d'activité totale les plus élevées concernent les variétés « prolifiques en épis », par exemple : 100,5 pour la lignée « normale » Oh 43 et respectivement 885 et 1 866 pour les lignées « prolifiques en épis » F 576 et Yu 1071. Cependant certaines lignées « prolifiques » comme T 115 n'ont pas une valeur particulièrement élevée ;

— les variétés sélectionnées pour leur prolificité en épis dans les Stations de Montpellier et de Saint-Martin-de-Hinx paraissent posséder des activités enzymatiques bien plus élevées que les lignées « prolifiques » non sélectionnées pour cette caractéristique ;

— la technique utilisée pour la préparation des plantules pourrait sans doute être améliorée par l'utilisation d'un éclairage plus intense d'environ 15 000 lux, d'une alternance des températures entre les périodes d'obscurité et d'éclairement et d'un broyeur homogénéiseur.

La mise en œuvre de ces conditions améliorées doit permettre de sélectionner avec plus de certitude les lignées « prolifiques en épis » d'après leur activité enzymatique nitrate-réductase.

II. — VARIATION DE LA PROLIFICITÉ EN ÉPIS EN FONCTION DU MILIEU

Les principaux facteurs du milieu naturel qui agissent sur la prolificité en épis des variétés, semées à époque normale, sont la lumière, l'eau et les éléments nutritifs.

(1) Étudiant de troisième année à l'École nationale supérieure agronomique de Montpellier. Mémoire de fin d'études.

Le génotype de la variété, plus précisément celui qui concerne l'expression de la prolificité en épis, et la densité de peuplement modifient l'influence de ces facteurs.

Les variétés prolifiques en épis supportant de fortes densités de peuplement et paraissant posséder une activité nitrate-réductase élevée devraient être tolérantes au manque de lumière.

Earley *et al.* (cités par Hageman et Leng Earl, 1960), ont étudié en 1959 l'influence de diverses intensités d'éclairement sur des maïs parvenus à différents stades d'évolution. Une intensité lumineuse très réduite de 80 à 90 p. 100, appliquée de la levée à deux semaines avant la floraison femelle, n'a pas d'action sur la différenciation des inflorescences femelles. Le même traitement effectué pendant une période comprise entre deux semaines avant la sortie des stigmates et une semaine après celle-ci inhibe la production des épis de presque toutes les variétés. S'il agit pendant la période qui commence une semaine après la floraison femelle et se termine à la maturité, la production en grain des épis est normale ; mais, le grain est plus ou moins bien rempli.

Stinson et Moss (1960) ont étudié le comportement d'hybrides tolérants et non tolérants au manque de lumière cultivés d'une part au champ en conditions naturelles et d'autre part en condition d'éclairement réduit de 11 à 45 p. 100. Les principaux résultats sont indiqués dans le tableau II.

TABLEAU II

Comportement d'hybrides tolérants et non tolérants au manque de lumière
(Stinson et Moss, 1960)

Catégorie d'hybrides	Rendement en grain (bu/acre)		Pourcentage de plantes sans épi	
	Conditions naturelles	Éclairement réduit (11 à 45 %)	Conditions naturelles	Éclairement réduit
Tolérants	104	42	0	5,8
Non tolérants	102	20	2,5	24,0
Différence	2	22	—	—

Les rendements en grain des témoins sont voisins ; mais, sous des conditions d'éclairement réduit, les hybrides non tolérants accusent une baisse de production plus importante en relation avec un pourcentage plus élevé de plantes sans épi. Cette stérilité femelle est d'autant plus élevée que l'écart qui sépare, dans le temps, la floraison femelle de la floraison mâle s'accroît avec la réduction de l'éclairement.

Stinson (1961) fait un parallèle entre la similitude du comportement des hybrides tolérants au manque de lumière et celui des hybrides tolérants à la sécheresse. Les hybrides tolérants sont capables de mieux distribuer les produits de la photosynthèse vers les épis sous des conditions défavorables à la croissance. La sécheresse survenant au moment de la formation du sac embryonnaire, de 55 à 60 jours après le semis, pro-

voque un retard de la sortie des stigmates et favorise la masculinité de la plante se traduisant par la présence sur l'inflorescence femelle d'épillets bisexués et par l'augmentation de la teneur en acide indolacétique de la plante (Moss et Downey, 1971).

Les hybrides non tolérants au manque de lumière sont incapables de produire des rendements en grain élevés même lorsqu'ils sont placés dans les meilleurs conditions d'approvisionnement en eau et de fertilisation azotée. Pour Hageman (1960), l'action des enzymes autres que la nitrate-réductase ne serait pas concernée.

Les variétés tolérantes aux densités de peuplement élevées réagissent plus favorablement pour la production en grain que les autres variétés quand elles sont soumises à des réductions de lumière. Cette constatation peut être illustrée par les résultats obtenus en 1960 par Stinson et reportés dans le tableau 12. Dans cette expérience l'auteur signale en outre que chez les variétés tolérantes aux densités élevées de peuplement soumises à des réductions de lumière, la hauteur de la plante est légèrement plus importante alors que le diamètre de la tige n'augmente pas ou très peu. Il en résulte que le pourcentage de casse de la tige est peu modifié.

TABLEAU 12

Réactions de variétés tolérantes et non tolérantes aux densités de peuplement élevées, soumises à des éclairements naturels (conditions au champ) *ou à des éclairements réduits* (Stinson, 1960)

	Groupe non tolérant (1)			Groupe tolérant (1)		
	éclairement naturel	éclairement réduit	réduction (%)	éclairement naturel	éclairement réduit	réduction (%)
Grain par plante (2)	152	21	86	161	80	50
Appareil végétatif (2)	172	170	1,5	137	115	16
Plante entière (2)	324	191	41	298	195	35
Plante sans épi (%)	5	80	—	1	13	—
Hauteur plante (cm)	270	308	—	272	313	—
Photosynthèse relative (à la floraison)	98	50	48	100	50	50
Pourritures de tige (%)	7	0	—	66	55	—
Sucres dans la tige (lecture réfractométrique)	5,2	12,3 (4)	—	3,0	4,2 (3) 12,3 (4)	—

(1) Moyenne de 2 hybrides simples.
(2) En grammes de matière sèche.
(3) Plante possédant un épi.
(4) Plante sans épi.

Pendant cette dernière décennie de nombreuses études ont porté sur le comportement de variétés prolifiques en épis comparativement à des variétés ne portant qu'un épi par plante, sous des conditions diverses de peuplement et de milieu. Citons Bauman (1960), Rautou (1963), Eberhart et Russel (1966), Hallauer (1967), Russell (1968), Russel et Eberhart (1968), Hallauer et Troyer (1972).

En 1971, nous avons comparé un hybride prolifique en épis « F 576 × Yu 1071 », provenant du croisement de deux lignées « prolifiques », à un hybride ne portant qu'un épi par plante « F 502 × Oh 43 », aux densités de peuplement de : 40 800, 69 600 et 99 900 plantes à l'hectare. Les résultats concernant le rendement en grain et les composantes du rendement sont donnés dans le tableau 13.

TABLEAU 13

Variation du rendement et des composantes du rendement en grain (*)
chez l'hybride « F 502 × Oh 43 » *portant un épi par plante*
et chez l'hybride « F 576 × Yu 1071 » *prolifique en épis, cultivés à différentes densités de peuplement*
(Saint-Martin-de-Hinx, 1971)

	Variété « normale » « F 502 × Oh 43 »			Variété prolifique en épis « F 576 × Yu 1071 »		
* Nombre de plantes/ha (× 1 000)	40,8	69,6	99,9	40,8	69,6	99,9
Poids de grains par plante (g)	202,9	141,1	98,5	248,7	157,9	115,6
* Nombre d'épis pour 100 plantes	100	100	97	202	177	123
* Poids de grains par épi (g) :						
— épi primaire	202,9	141,1	98,5	129,4	119,4	105,8
— autres épis	—	—	—	119,3	38,5	9,8
Pourcentage de réduction (1)	0	30,5	51,5	0	7,7	18,2
* Poids de 1 000 grains (épi primaire)	368	344	344	234	225	220
Rendement grain (q/ha) :						
— épi primaire	82,8	98,2	98,4	52,8	83,1	105,7
— autres épis	0	0	0	48,8	26,8	9,8
— total	82,8	98,2	98,4	101,6	109,9	115,5
Pourcentage de participation au rendement (2) :						
— épi primaire	100,0	100,0	100,0	52,0	75,6	91,5
— autres épis	0	0	0	48,0	24,4	8,5

Rendement q/ha à 15 p. 100 d'humidité, P.p.d.s. (0,05) : variété = 6,8 ; densité = 5,1 ; interaction V × D = 5,4.

(1) Par rapport à la densité de peuplement faible.

(2) Par rapport au rendement total.

La production en grain par plante diminue à mesure que la densité du peuplement s'élève et cela aussi bien chez la variété « normale » que chez la variété « prolifique ». La participation des épis des étages inférieurs dans la production totale, nulle pour la variété « F 502 × Oh 43 », devient de moins en moins importante chez la variété « prolifique » à mesure que le peuplement augmente. Le rendement s'accroîtra donc avec la densité de peuplement aussi longtemps que l'augmentation du nombre des épis compensera la réduction de leur taille.

En se reportant au tableau 13, on constate, pour la variété « prolifique » « F 576 × Yu 1071 », que l'importance de l'épi supérieur est relativement stable alors que la densité de peuplement varie entre des limites relativement larges. Par

contre la contribution au rendement final des épis secondaires, qui est de 48 p. 100 pour le peuplement 40 800 plantes à l'hectare, tombe de 24,4 à 8,5 lorsque la densité du peuplement s'élève de 69 600 à 99 900 plantes à l'hectare. Chez les variétés « prolifiques » l'interaction génotype × milieu (densité de peuplement) est beaucoup plus faible pour l'épi supérieur que pour les épis des étages inférieurs.

Un objectif important du sélectionneur est l'obtention de variétés telles que l'interaction génotype × situation × année soit la plus petite possible. La sélection de variétés prolifiques en épis offre le moyen d'obtenir de telles variétés. Grâce à la présence d'un deuxième épi, dont la participation au rendement total n'est pas négligeable, les variétés prolifiques en épis disposent d'un système d'auto-ajustement de la productivité en grain en fonction de la densité de peuplement et des conditions de milieu.

III. — VARIATION DE LA PROLIFICITÉ EN ÉPIS EN FONCTION DU GÉNOTYPE

Caractères liés à la prolificité en épis

Prises dans leur ensemble, les variétés prolifiques en épis sont caractérisées morphologiquement par des plantes de haute taille, à épi supérieur inséré haut, portant plusieurs épis de faible importance.

De nombreux chercheurs signalent une corrélation positive entre la prolificité en épis et la tardiveté. Le matériel végétal « prolifique » dont nous disposons, relativement tardif, permet l'obtention d'hybrides possédant un indice de maturité supérieur à 400 — échelle F.A.O. La fréquence de la prolificité en épis dans le matériel végétal plus précoce semble être plus faible ; mais, nos données expérimentales sont insuffisantes pour pouvoir l'affirmer. En vue d'obtenir des géniteurs précoces « prolifiques en épis » on pourrait, pour essayer de rompre la liaison prolificité en épis-tardiveté, utiliser la méthode de recroisement mise au point par Rinke (1961) pour la transmission des caractères polygéniques.

Chao (1959) signale une certaine liaison entre la prolificité en épis, la tardiveté et la coloration blanche du grain. Le fait que l'on observe une fréquence relativement élevée de lignées « prolifiques », tardives, à grain blanc dans les états du Sud des États-Unis peut s'expliquer d'une part par la sélection naturelle résultant de l'action d'un climat sec qui a favorisé l'extension des génotypes de prolificité en épis et d'autre part par l'action de la sélection humaine qui a conservé les variétés à grain blanc. Ainsi prolificité en épis et coloration du grain seraient des caractères indépendants.

On peut craindre que la haute taille des lignées prolifiques en épis favorise la sensibilité à la verse. D'après Eastin, cité par Hallauer et Troyer (1972), il n'y a pas de barrière physiologique qui s'oppose à l'association de la prolificité en épis et de la résistance à la verse à maturité. L'observation de la résistance à la verse de nos lignées prolifiques en épis dans les pépinières et dans les essais destinés au jugement de la valeur hybride, dans la mesure, toutefois, où la sélection a porté sur les deux caractères à la fois dès le début du programme d'obtention des lignées, semble indiquer qu'il en est ainsi.

La valeur technologique du grain chez les variétés prolifiques en épis, cultivées à des peuplements élevés, est meilleure que chez les variétés normales récoltées dans les mêmes conditions ; il y a en effet moins d'épis atrophiés.

Matériel végétal

Méthode de jugement.

Indice de prolificité en épis.

Seuls, parmi les chercheurs, LAIBLE et DIRKS (1968) utilisent un indice pour sélectionner les lignées prolifiques en épis. Cet indice, désigné par la dénomination ENWI — contraction de ear number weight index — est obtenu en additionnant les valeurs du rapport du poids en grain de chaque épi de la plante, au poids en grain de l'épi le plus lourd de la plante :

$$\text{ENWI} = \frac{\text{Poids en grain-épi supérieur}}{\text{Poids en grain-épi le plus lourd}} + \frac{\text{Poids en grain-épi secondaire}}{\text{Poids en grain-épi le plus lourd}} + \ldots$$

Un bon indice de prolificité en épis doit permettre de détecter les lignées possédant ce caractère. En outre il doit favoriser la sélection de lignées portant d'une part des épis bien développés et douées d'autre part d'une bonne résistance à la verse pendant la végétation.

Un tel indice a été mis au point à la Station expérimentale du Maïs de Saint-Martin-de-Hinx.

Plusieurs caractères des épis ont été retenus pour la détermination de l'indice de prolificité en épis. Chaque caractère reçoit une note qui est fonction de sa valeur. Ces notes sont affectées d'un coefficient qui varie avec l'importance attribuée au caractère en cause. Ce coefficient est d'autant plus élevé qu'il intéresse un épi des étages inférieurs. La somme de toutes les notes affectées de leur coefficient donne l'indice.

1. Nombre d'épis pour 100 plantes : au-dessus de 150 (nombre que nous avons choisi arbitrairement) chaque épi supplémentaire donne un point. Par contre une lignée ayant un nombre d'épis inférieur à 150 reçoit une note négative.
2. Longueur moyenne de l'épi primaire : 0,5 point par centimètre.
3. Longueur moyenne de l'épi secondaire : 1 point par centimètre.
4. Pourcentage :
   - — de plantes à 3 épis : pourcentage noté multiplié par 0,25 point,
   - — de plantes à 4 épis : pourcentage noté multiplié par 0,25 point,
   - — de plantes à épi secondaire plus long que l'épi primaire : pourcentage noté multiplié par 0,25 point.

Méthodologie.

La détermination de l'indice de prolificité peut être effectuée :

— pour tout matériel végétal introduit : population de pays, variété composite, variété synthétique, lignée...,

— pour les lignées en cours de sélection de la pépinière « prolificité en épis » lorsqu'elles sont, soit sur le point d'être jugées pour leur valeur en combinaison, soit retenues après ce jugement.

Le matériel végétal à juger est semé :

— à une densité de peuplement faible, de 4 à 5 plantes au mètre carré par exemple, pour que les potentialités de prolificité en épis se manifestent pleinement ;

TABLEAU 14

Détermination des indices de prolificité en épis de lignées prolifiques et semi-prolifiques pour une densité de peuplement faible : 3,17 plantes au mètre carré

(Saint-Martin-de-Hinx, 1969)

Lignée (provenance)	Éléments de cotation				
	Nbre d'épis pour 100 plantes (> 150)	Longueur de l'épi primaire (cm × 0,5)	Longueur de l'épi secondaire (cm × 1)	Autres caractéristiques (1)	*Indice*
Europe :					
France :					
F 52	43	5,8	9,0	3,5	61,3
F 520	55	7,3	12,2	7,5	82,0
F 576	185	6,2	10,6	38,3	240,1
FFB 86-2	24	6,2	11,1	2,3	43,6
Yougoslavie :					
Yu 21	38	7,2	8,7	—	53,9
Yu 1071	60	6,9	13,0	9,5	89,4
Yu 1681 (2)	72	5,4	11,1	22,3	110,8
U.S.A. :					
A 632	45	7,6	13,2	8,3	74,1
B 59	50	7,6	12,7	2,8	73,1
BX 55-85	50	5,0	6,9	3,5	65,4
Oh 07 B	50	7,4	12,3	7,5	77,2
1278 (3)	103	5,7	9,9	22,5	141,1
R. Argentine :					
F 64 (4)	18	5,8	8,6	—	32,4
F 68 (4)	65	5,0	8,0	8,8	86,8
Australie :					
NE 2(5)	50	7,4	12,7	6,0	76,1
Israël :					
IN 369	41	8,2	14,5	6,5	70,2

(1) Voir le texte : détermination de l'indice.
(2) Détermination effectuée sur 9 plantes au lieu de 20.
(3) Lignée présumée originaire des états du Sud des U.S.A.
(4) Lignée INRA sélectionnée dans une population de pays de République Argentine.
(5) Lignée apparentée à Oh 07 B.

— à une densité de peuplement très élevée, le double de la première par exemple, pour apprécier le pouvoir de compétition, c'est-à-dire plus précisément la capacité d'adaptation de la variété aux conditions défavorables à la croissance. Ce dernier jugement peut être partiel, ne porter que sur le pourcentage d'épis, ou mieux être basé sur l'indice de prolificité. Le comportement en peuplement élevé apporte en outre des renseignements précieux sur la résistance à la verse en végétation.

La détermination de l'indice de prolificité en épis, lequel est spécifique à 100 plantes, est fait à partir de l'examen d'un nombre minimum de 20 plantes. Pour corriger l'influence du milieu sur la valeur relative de l'indice nous introduisons dans la série à juger des témoins de prolificité en épis connue — de degré d'hétérozygotie comparable (lignée, hybride) — et de précocités diverses.

Le tableau 14 donne, pour des lignées prolifiques et semi-prolifiques en épis, des éléments partiels utilisables pour la détermination de leur indice de prolificité.

L'emploi de l'indice de prolificité en épis pourrait être rendu plus efficace en donnant une valeur plus élevée au seuil de 150, et en attribuant aux caractères des épis inférieurs des coefficients plus élevés que ceux qui ont été choisis.

Variabilité génétique disponible.

C'est à partir de 1969 que nous avons commencé à prospecter le matériel végétal en nous adressant d'abord à du matériel fixé, des lignées provenant surtout d'Europe et d'Amérique du Nord, et à une échelle moindre d'Amérique latine, d'Afrique du Nord et d'Israël.

Nous avons fait un tri en retenant les lignées dont la prolificité en épis fluctuait autour de 150 épis pour 100 plantes, puis nous avons déterminé l'indice de prolificité en épis des lignées ainsi sélectionnées. Les éléments de détermination et les indices de prolificité en épis de certaines lignées sont reportés dans le tableau 14.

Les lignées du tableau 14 dont l'indice relatif atteint une valeur arbitraire supérieure à 80 peuvent être utilisées comme géniteurs de prolificité en épis.

D'autres résultats concernant les indices de prolificité en épis obtenus à deux densités : faible et élevée, de quelques lignées sont indiqués dans le tableau 15.

D'après ces déterminations, on observe peu de variabilité génétique pour la prolificité en épis entre les nombreuses lignées provenant des états du nord et du centre des États-Unis. Nous considérons les meilleurs d'entre elles : A 632, Oh 07 B, B 59 comme des lignées semi-prolifiques. Par contre, dans les états du Sud des États-Unis, la fréquence de ce type de lignées paraît beaucoup plus élevée ; nous pouvons citer notamment T 115, 1278. Malheureusement, leur tardiveté ne permet pas de les utiliser directement dans nos conditions géographiques.

Nous n'avons pas prospecté à proprement parler le matériel végétal de l'Amérique latine exception faite de deux lignées sélectionnées à partir de populations de pays de l'Argentine. Une de ces lignées : F 68, s'est révélée prolifique en épis.

En Europe les variétés en provenance de Yougoslavie et probablement des Balkans méritent d'être étudiées de ce point de vue. La lignée yougoslave Yu 1071, de la Station de Zemun-Polje, est un excellent géniteur pour la prolificité en épis. Parmi nos lignées F 52, issue de la population de pays « Grand Roux Basque », est une semi-prolifique. Une autre F 576, très « prolifique » mais possédant de très petits épis, a pour origine le croisement de la lignée B 37 avec une variété pop corn PI 21407. La sous-espèce agronomique *Zea mays everta* groupe les variétés pop corn caractérisées par une bonne prolificité en épis, mais aussi par une faible productivité en grain.

TABLEAU 15

Variation de l'indice de prolificité en épis en fonction de la densité de peuplement (D_1 = 70 × 30 cm (47 600 pl/ha) ; D_2 = 70 × 20 cm (71 400 pl/ha).

Lignées sélectionnées pour leur prolificité en épis

(Saint-Martin-de-Hinx, 1970)

Lignée	Peuplement	Nombre de points pour :				Indice
		Nombre d'épis	Longueur de l'épi primaire	Longueur de l'épi secondaire	Autres (1) caractères	
F 564	D_1	7,0	7,0	10,3	0,0	24,3
	D_2	— 27,0	6,5	10,0	1,9	— 8,6
F 576	D_1	359,0	6,3	10,2	40,9	416,4
	D_2	221,0	6,8	10,7	36,6	273,1
F 483	D_1	150,0	8,5	12,5	17,9	188,9
	D_2	71,0	7,7	13,2	11,5	103,4
1278	D_1	56,0	6,3	11,0	7,1	80,4
	D_2	— 7,0	6,1	10,4	0,9	10,4
A 632	D_1	10,0	6,8	12,5	7,5	36,8
	D_2	— 25,0	5,6	11,1	4,5	— 3,8
T 115	D_1	126,0	6,5	10,3	25,0	167,8
	D_2	85,0	6,2	9,6	11,5	112,3
Yu 1681	D_1	12,0	4,8	8,4	2,4	27,6
	D_2	— 22,0	4,1	7,6	2,0	— 8,3

(1) Voir le texte : détermination de l'indice.

Obtention et amélioration de composites et de synthétiques prolifiques en épis.

Les lignées prolifiques ainsi sélectionnées peuvent être utilisées, soit directement pour l'obtention d'hybrides commerciaux, soit indirectement pour la production de descendances hybrides servant de matériel de départ pour l'obtention de nouvelles lignées. Dans certaines de ces descendances, issues du croisement d'un grand nombre de lignées non fixées (composites) ou fixées (synthétiques), le brassage répété des gamètes favorise les recombinaisons des gènes de prolificité en épis ainsi que les ruptures de liaisons indésirables. C'est pourquoi nous avons entrepris la production de deux synthétiques : américaine et européenne à partir des lignées prolifiques et semi-prolifiques suivantes :

— synthétique américaine : A 239, A 632, B 59, B 68, B × 55-85, CI 90 A, NE 2, R 134, R 221, SA 24 (pop corn), T 115, 1278 et F 576 (issue de pop corn) ;

— synthétique européenne : lignées de notre obtention : F 52, F 64, F 68, F 483 E, F 520, FFB 86-2, FC 1412 (Clermont-Ferrand), FC 1414 (Clermont-Ferrand), lignées yougoslaves : Yu 11, Yu 21, Yu 1071, Yu 1081, Yu 1641 ; lignée bulgare : BGR 320, lignée hongroise B 14/11-4, lignée roumaine RT 9, lignée portugaise PV 135, lignées marocaines : MR 19, MR 624.

Nous nous proposons d'améliorer la prolificité en épis de nos 2 synthétiques : américaine et européenne, en utilisant la méthode de sélection récurrente réciproque « full-sib ». Cette méthode, que nous développerons, présente l'avantage d'accroître à chaque cycle d'amélioration la fréquence des gènes favorables, d'une part à l'expression de la productivité en grain en retenant ceux ayant un mode d'action additif et un mode non-additif, et d'autre part ceux agissant sur la prolificité en épis.

Nous avons introduit aussi 3 synthétiques américaines par l'intermédiaire des Établissements de Semences R.A.G.T. (Rodez), 2 synthétiques bulgares de la Station du Maïs de Kneja, 4 synthétiques roumaines de l'Institut de Recherches pour les Céréales et les Plantes industrielles de Funduléa et 1 synthétique d'Argentine. Ayant jugé insuffisante la prolificité en épis de ces synthétiques nous avons décidé de les améliorer en augmentant la fréquence des génotypes prolifiques en épis grâce à un cycle de sélection récurrente. Pour cela nous avons autofécondé dans chaque synthétique un grand nombre de plantes que nous avons choisies au moment de la floraison, en appliquant la technique du « double ensachage par plante ». Les descendances des plantes autofécondées seront jugées en épi-ligne en 1975 pour leur prolificité en épis, et elles subiront une légère pression de sélection pour éviter de perdre des gènes favorables à l'expression de la prolificité. Les lignées retenues serviront à constituer une composite améliorée.

IV. — HÉRÉDITÉ DE LA PROLIFICITÉ EN ÉPIS

La prolificité en épis, plus exactement l'expression phénotypique de ce caractère, dépend : du génotype de la plante, notamment de son degré d'hétérozygotie (lignée, hybride...) élément déterminant de sa vigueur, et du milieu, en particulier de la densité de peuplement.

L'héritabilité de ce caractère est recherchée au plus haut point par le sélectionneur. L'héritabilité d'un caractère est d'autant plus élevée que l'influence due au génotype prédomine celle provenant du milieu.

Laible et Dirks (1968), Hallauer (1974) estiment que l'héritabilité de la prolificité en épis d'une lignée varie avec la densité de peuplement. D'après eux, le sélectionneur, désirant obtenir des lignées prolifiques en épis, est placé devant l'alternative :

— soit semer le matériel végétal à faible densité de peuplement de façon à ce que les potentialités génétiques se manifestent au maximum, en espérant que la prolificité en épis se maintiendra avec des semis à peuplement élevé ;

— ou bien semer le matériel végétal à densité de peuplement élevée, en espérant que la prolificité ainsi décelée se trouvera aux peuplements faibles.

Nous estimons que le degré de la prolificité en épis de l'hybride à obtenir doit être déterminé en fonction de la densité de peuplement à laquelle il sera cultivé. Ce degré de prolificité en épis de l'hybride dépend de l'héritabilité de ce caractère chez les lignées constitutives de l'hybride cultivé à une densité de peuplement donné, et du mode de transmission de ce caractère chez celui-ci.

Les hybrides prolifiques en épis et résistants à la verse placés dans des conditions favorables à la croissance seront cultivés à des densités élevées de peuplement afin

d'obtenir des rendements records ; placés dans des conditions plus difficiles, sécheresse par exemple, ils seront semés à une densité relativement faible et auront la possibilité, si les conditions deviennent éventuellement favorables, de produire plusieurs épis par tige.

La technique de sélection appliquée par la Station : pépinière de lignées semées à deux densités de peuplement (l'une normale, l'autre très élevée) *couvrant donc une gamme de peuplements de très large amplitude*, permet de supprimer la cause d'erreur signalée par LAIBLE, DIRKS et HALLAUER, qui entâche la détermination de l'héritabilité, et de sélectionner ainsi des lignées vraiment « prolifiques ». La sélection ainsi conduite doit permettre l'obtention de lignées ayant une forte héritabilité de la prolificité en épis, quelles que soient les densités de peuplement utilisées. Nous basons cette opinion sur les deux faits suivants : d'une part *ces lignées possèdent des indices élevés de prolificité en épis aussi bien en peuplement normal qu'en peuplement dense*, d'autre part l'interaction génotype × milieu diminue à mesure que la prolificité en épis augmente.

Les études portant sur l'hérédité de la prolificité en épis sont récentes et peu nombreuses et les résultats obtenus jusqu'à maintenant ne sont pas définitifs. Pour obtenir plus de précision sur cette transmission héréditaire, il est indispensable d'attendre pour mettre en œuvre davantage de lignées non apparentées génétiquement et présentant du point de vue de la prolificité en épis une gamme d'amplitude plus étendue.

Jusqu'à maintenant la prolificité en épis est considérée comme un caractère polygénique soumis aux lois de l'hérédité quantitative. Généralement la prolificité en épis se comporte comme un caractère récessif ; cependant on observe des variations qui dépendent des génotypes associés. Ainsi, cité par HALLAUER (1974), le degré de dominance du caractère « non prolificité en épis », observé chez la lignée C 103, varie selon le génotype de la lignée avec laquelle elle est combinée.

V. — MÉTHODES DE SÉLECTION EN VUE DE L'OBTENTION D'HYBRIDES PROLIFIQUES EN ÉPIS

Méthode classique

Nous n'indiquerons ici que ce qui est particulier à l'obtention des hybrides prolifiques en épis.

Obtention des lignées prolifiques en épis.

Nous produisons les départs en lignées en opérant des autofécondations dans du matériel « prolifique » de préférence, en utilisant la technique du « double ensachage par plante ». Les épis autofécondés sont égrenés séparément. A la génération suivante une partie des grains de l'épi est semée dans la pépinière F_3 « non triées » et le reste est stocké en chambre conditionnée. Les observations des F_3 « non triées » portent sur la valeur agronomique et sur la prolificité en épis ; à maturité nous notons les lignées jugées intéressantes par leur aspect. Les semences stockées de ces lignées sont utilisées à la culture suivante pour mettre en place :

— une pépinière F_3 « triées » pour observation en semis à densité de peuplement normale et à densité élevée ;

— la même pépinière destinée à la production des lignées F_4, par autofécondation, en semis à peuplement normal ;

— une parcelle isolée pour effectuer les croisements de ces lignées avec le testeur, utilisé comme parent mâle, en vue du jugement de leur valeur hybride. La sélection des lignées retenues de la pépinière F_3 « triées » est poursuivie l'année suivante en pépinière F_4 et elles sont mises en essai comparatif pour le jugement de leur valeur hybride. La détermination de l'indice de prolificité en épis des lignées mises en essai peut alors être effectuée.

Choix du testeur utilisé pour juger la valeur hybride des lignées.

Les qualités que l'on demande à un testeur dépendent de l'utilisation finale des lignées à juger.

Dans ce programme de sélection, qui débute, les principaux obstacles au progrès sont, d'une part l'insuffisance de la variabilité génétique du matériel de départ pour la prolificité en épis, et d'autre part les possibilités limitées de choix d'un testeur approprié. Un bon testeur doit, en priorité, apporter dans les combinaisons hybrides des gènes de « prolificité » complémentaires à ceux provenant des lignées à juger. Parmi le matériel végétal d'origine américaine, seule la lignée semi-prolifique A 632, de précocité satisfaisante, paraît momentanément convenir comme testeur pour juger les lignées « prolifiques » de notre obtention. Cependant une part importante de l'hétérosis concernant la productivité en grain observé chez les hybrides ainsi produits avec A 632 résulte d'interactions alléliques et géniques. Aussi la destination finale des hybrides intéressants sera-t-elle leur lancement en grande culture.

Dans une prochaine étape, d'autres testeurs, plus satisfaisants, remplaceront la lignée A 632 et permettront de juger les lignées pour leur aptitude générale à la combinaison concernant la production en grain. Ils seront constitués soit par des synthétiques « prolifiques » soit par des hybrides simples « prolifiques » choisis si possible pour leur aptitude générale à la combinaison d'après des résultats de croisements diallèles.

Méthode de sélection réciproque « full sib »

Dans la méthode classique d'obtention des lignées, on élimine à chaque génération autofécondée de nombreux allèles et gènes qui pourraient participer à l'expression de l'hétérosis, dont bénéficie la productivité en grain, et que l'observation ne permet pas de conserver.

La méthode de sélection réciproque « full sib » — terme anglais difficilement traduisible en français — mise au point par Hallauer (1967), permet de retenir à chaque génération autofécondée les gènes additifs et non additifs. Elle s'applique à deux populations prolifiques en épis A et B très diversifiées génétiquement.

Une plante prolifique en épis A_1 choisie dans la population A est à la fois autofécondée et croisée par du pollen provenant d'une plante « prolifique » B_1 choisie dans la population B. Cette plante B_1 est, elle aussi, autofécondée et croisée par du pollen de la plante A_1.

Les croisements de ce type : $A_1 \times B_1$, $A_2 \times B_2$ ... sont comparés dans un essai effectué à partir des semences ainsi obtenues, en particulier à partir des mélanges

réunissant les semences d'un croisement avec celles de son croisement réciproque. Les semences autofécondées S_1 de chaque population sont stockées en chambre conditionnée. Après expérimentation, on élimine 40 à 50 p. 100 des croisements.

Les autofécondations concernant les plantes des croisements retenus sont semées en pépinière en groupant par paire les lignées qui constituent un hybride. On choisit dans chaque lignée autofécondée de 4 à 6 plantes « prolifiques » que l'on autoféconde et que l'on croise avec une plante prolifique de la lignée partenaire, qui elle-même est autofécondée. Le croisement réciproque est aussi effectué comme précédemment.

Les hybrides obtenus sont expérimentés et les cycles de sélection se poursuivent ainsi qu'à la fixation des lignées.

Nous disposons de nombreuses synthétiques diversifiées génétiquement que nous améliorons pour la prolificité en épis. Nous nous proposons ensuite d'effectuer entre elles tous les croisements diallèles. Les résultats des essais réalisés avec ces croisements diallèles nous indiquerons quelles sont les synthétiques qui se combinent le mieux et à partir desquelles nous obtiendrons des lignées en appliquant la méthode de sélection réciproque « full sib ».

Sans attendre ces résultats, nous commençons à appliquer cette méthode à nos synthétiques « prolifiques » américaine et européenne.

Amélioration des lignées « prolifiques » pour l'importance de l'épi

Deux orientations sont prévues pour atteindre cet objectif.

Dans l'une, qui est déjà amorcée, on vise à augmenter l'importance des épis en les allongeant. Les futurs hybrides « prolifiques », cultivés en conditions favorables, seront semés à des densités élevées de peuplement. Aussi avons-nous choisi comme composante de la productivité en grain de l'épi, la longueur, c'est-à-dire celle qui fluctue le plus. Nous utilisons des géniteurs à épi long dont la taille est peu influencée par la densité de peuplement. Pour déceler ces géniteurs nous avons sélectionné dans la Collection les lignées dont la taille de l'épi atteint ou dépasse celle de la lignée B 37. Ces lignées ont été semées à deux densités de peuplement, 4,8 et 8,0 plantes au mètre carré, et observées en 1973 et en 1974 à Saint-Martin-de-Hinx. Quelques lignées prolifiques en épis ont été ajoutées à cette série. Nous avons noté à la maturité : le nombre d'épis par plante, le nombre de plantes sans épi, la longueur de l'épi supérieur, et étudié la variation de ces éléments en fonction des densités de peuplement. Nous avons jugé les lignées en leur attribuant une classe d'autant plus élevée que leur réaction aux densités de peuplement était plus importante. Les résultats, concernant des lignées à épi long auxquelles nous avons joint des lignées prolifiques en épis, sont reportés dans le tableau 16.

On constate, chez les lignées « prolifiques », la petitesse de l'épi supérieur et au peuplement élevé la constance de la longueur et de la présence de cet épi. Les lignées à épi long telles que C 103, Yu L 21 réagissent mal à l'augmentation du peuplement. D'autres lignées à épi long comme : F 570, B 68, Yu R 308, Yu L 157, C 103 Yu et B 55 paraissent mieux se comporter aux forts peuplements et momentanément peuvent être utilisées comme géniteurs pour accroître la taille des épis des lignées « prolifiques ». Signalons que la lignée C 103 yu de la Station d'Osijek (Yougoslavie), obtenue par radio-exposition aux rayons γ à partir de C 103, se distingue de cette dernière

TABLEAU 16

Variation de quelques caractéristiques concernant des lignées semées aux densités de peuplement de 4,8 et 8,0 plantes au mètre carré

(Station de Saint-Martin-de-Hinx, 1973 et 1974)

Lignée	Longueur de l'épi primaire (exprimée en classe) (1)				Pourcentage de plantes sans épi (au peuplement élevé)	
	Valeur absolue		Pourcentage de réduction au peuplement élevé			
	1973	1974	1973	1974	1973	1974
I. — *Lignées prolifiques en épis*						
F 576	5	5	1	2	0	0
Yu 1071	5	5	(3)	1	0	0
T 115	5	5	1	2	0	0
II. — *Lignées à épi long réagissant mal au peuplement élevé*						
C 103	3	2	2	2	39	6
BGR 3014	1	2	2	1	6	14
Yu L 21	2	2	2	2	8	33
SA 24	2	2	2	2	8	16
III. — *Lignées sélectionnées comme géniteur à épi long réagissant peu au peuplement élevé*						
F 570	1	1	2	1	5	3
B 55	1	2	2	2	7	0
B 68	2	2	2	2	8	0
C 103 yu	2	2	2	1	7	3
Yu L 157	—	2	—	1	—	0
Yu R 308	2	2	1	2	7	0

(1) Longueur de l'épi primaire exprimée en classe :

	1973	1974
— Valeur absolue (cm) :		
classe 1	⩾ 19,0	⩾ 18,8
classe 2	de 17,0 à 18,9	de 16,8 à 18,7
classe 3	de 15,5 à 16,9	de 15,3 à 16,7
classe 4	de 14,0 à 15,4	de 13,8 à 15,2
classe 5	< 14,0	< 13,8
— Pourcentage de réduction : $100 - \left(\frac{\text{longueur peuplement élevé}}{\text{longueur peuplement faible}}\right) \times 100$:		
classe 1	⩽ 10	⩽ 18
classe 2	de 11 à 20	de 19 à 28
classe 3	de 21 à 30	de 29 à 38
classe 4	> 30	> 38

par une légère précocité et probablement par un comportement différent du point de vue de la compétition entre plantes.

Pour obtenir plus rapidement des renseignements sur l'efficacité du choix du géniteur à épi long, et sans attendre la confirmation des résultats d'une première année d'observation, nous avons croisé respectivement des lignées « prolifiques » : F 576 et F 482 × F 52 nº 103 avec les géniteurs B 55 et Yu R 308. Nous nous proposons de sélectionner, dans chaque descendance F_2, les plantes à fort degré de « prolificité » et à épi important pour les recroiser avec la lignée récurrente « prolifique ». Si ce choix est difficile à réaliser, il sera alors possible de recourir à un deuxième recroisement avec le géniteur à épi long ou mieux de croiser entre eux les génotypes les plus favorables de la descendance pour accroître la fréquence des génotypes intéressants grâce aux recombinaisons.

Nous envisageons aussi une orientation nouvelle pour obtenir des lignées « prolifiques » portant des épis de bonne taille. Elle consiste à transférer le caractère de prolificité en épis à des lignées à épi long pour lesquelles la taille de l'épi réagit peu aux variations de peuplement.

Nous utiliserons pour cela la méthode du recroisement telle que RINKE l'a adaptée à la transmission des caractères polygéniques. Tout récemment DUVICK (1974) a éprouvé l'efficacité de cette méthode en l'appliquant, avec un certain succès, pour améliorer la « prolificité » de la lignée C 103 à partir du pop corn AP, très prolifique en épis.

VI. — PREMIERS RÉSULTATS

Les lignées prolifiques en épis de notre obtention les plus avancées en sélection, parvenues en F_4-F_5 en 1974, ont été jugées pour leur valeur hybride en 1973 et en 1974.

Ces lignées, malheureusement, ont une origine commune qui s'explique par la rareté du matériel végétal disponible lorsque le programme d'amélioration a été abordé. Elles sont surtout issues de descendances hybrides trois-voies provenant de croisements entre l'hybride simple relativement prolifique en épis « F 564 × F 576 » avec une lignée semi-prolifique en épis : F 49, F 52, F. 64, etc.

Nous avons jugé la valeur hybride de ces nouvelles lignées après croisement avec la lignée américaine semi-prolifique A 632, en nous basant sur le comportement de témoins, les uns, constitués par les hybrides « normaux » productifs en grain et possédant une bonne résistance à la verse : « Star 304 » et « INRA 508 », les autres, résultant du croisement de lignées « prolifiques » décelées avec A 632.

Les résultats de cette expérimentation, conduite en 1973 et en 1974 pour certaines lignées, et en 1974 pour d'autres, sont reportés respectivement dans les tableaux 17 A et 18 A. En outre, pour évaluer les progrès accomplis et en déduire les possibilités futures d'avancement qu'offre l'amélioration de la prolificité en épis, nous avons utilisé un système de cotation qui permet d'effectuer des comparaisons valables tout en tenant compte des différences de précocité et de résistance, notamment à la verse, qui existent entre les hybrides, tableaux 17 B et 18 B.

La prolificité en épis de nos lignées se transmet dans les hybrides issus du croisement avec la lignée semi-prolifique A 632. Nous observons dans les degrés de proli-

TABLEAU 17 A

Jugement de la valeur hybride de lignées prolifiques en épis croisées avec la lignée A 632
(Saint-Martin-de-Hinx (SM) et Montpellier (Mtp), 1973 et 1974)

I. — *Éléments*

Variétés	Nombre d'épis pour 100 plantes				Rendement grain 15 % d'eau (q/ha)				Pourcentage en eau du grain	Verse (2)	Vigueur départ (3)
	1973		1974		1973		1974				
	SM	Mtp	SM	Mtp	SM	Mtp	SM	Mtp			
Témoins « normaux » :											
« Star 304 »	95	106	95	94	78,0	80,9	72,0	84,3	21,7	5,9	4,0
« INRA 508 »	94	99	96	94	78,6	91,9	77,3	100,1	26,3	7,5	4,1
Moyenne	94,5	102,5	95,5	94,0	78,3	86,4	74,7	92,2	24,0	6,7	4,05
Témoins « prolifiques » :											
A 632 × Yu 1071	95	102	102	109	98,5	73,7	85,2	94,4	25,4	3,9	3,4
A 632 × F 576	123	134	107	124	98,6	81,9	72,4	90,9	28,5	5,7	3,8
A 632 × F 483 E	97	103	102	109	90,5	71,9	80,2	95,7	26,1	7,7	3,6
A 632 × T 115	114	119	111	117	110,3	105,5	87,5	115,2	31,0	6,0	3,9
A 632 × 1278	117	103	105	112	106,5	82,6	94,1	113,0	29,8	2,6	3,9
Moyenne	109	112	105	113	100,9	83,1	83,9	101,8	28,2	5,2	3,72
Lignées « prolifiques » à juger (1).											
A 632 × FF.F 49 nº 10	130	119	129	126	98,1	83,3	81,0	89,4	25,0	7,5	3,9
A 632 × FF.F 49 nº 36	106	110	109	124	94,3	84,4	86,1	102,5	26,2	7,5	3,8
A 632 × FF.F 52 nº 31	102	106	103	110	87,3	78,2	78,2	92,9	25,1	6,8	3,5
A 632 × FF.F 52 nº 43	115	106	102	116	100,3	74,6	83,7	95,1	24,7	6,8	3,7
A 632 × FF.F 52 nº 71	102	112	102	102	96,4	85,0	82,3	87,7	25,8	6,3	3,6
A 632 × FF.F 52 nº 108	108	112	109	113	99,7	85,0	86,6	99,0	26,5	7,0	3,5
A 632 × FF.F 64 nº 47	117	123	106	115	97,7	89,8	79,3	99,1	29,0	6,1	3,9
A 632 × FF.F 64 nº 74	129	139	123	135	96,7	81,6	79,9	98,2	27,3	6,6	3,5
A 632 × FF.F 64 nº 83	101	114	104	114	104,4	81,2	81,2	110,8	29,2	6,6	3,5
A 632 × FF.Yu 11 nº 147	123	101	109	122	90,4	66,2	78,7	94,2	25,4	7,4	3,0
A 632 × FF.Yu 21 nº 62	114	112	110	123	95,1	77,7	81,0	101,6	24,0	6,6	3,5
A 632 × FF.Yu 1071 nº 80	96	117	108	110	97,0	79,6	87,5	101,4	27,5	7,8	3,2
A 632 × FF.Yu 1641 nº 32	124	111	114	108	108,3	72,8	85,0	79,6	27,7	6,2	3,1
A 632 × FF.Yu 1641 nº 166	142	119	117	137	114,1	75,7	78,8	97,5	26,8	4,2	3,3
Moyenne	115	114	110	118	98,6	79,7	82,2	96,4	26,4	6,7	3,5
Autre témoin « prolifique » :											
Yu 1071 × F 576	148	154	158	163	97,7	83,0	89,8	100,2	27,8	6,0	3,4

(1) Les lignées « prolifiques » sont issues de descendances « trois voies » entre l'hybride semi-prolifique « F 564 × F 576 » et une lignée non prolifique : F 49 ou des lignées semi-prolifiques : Yu 11, Yu 21, Yu 1071, Yu 1641, F 52, F 64.

(2) Résistance à la verse : note sur 10 (= bon).

(3) Vigueur au départ de la végétation : note sur 5 (= bon).

TABLEAU 17 B

Jugement de la valeur hybride de lignées prolifiques en épis croisées avec la lignée A 632

(Saint-Martin-de-Hinx et Montpellier, 1973 et 1974)

II. — *Rendement moyen et cotation finale*

Variétés	Indice de maturité (1)	Rendement moyen (q/ha)	Rendement relatif = note (2)	Somme points précocité (2)	Somme points résistance (2)	Note finale (2)
Témoins « normaux »:						
« Star 304 »	310	78,800	95,07	+ 5,75	— 1,25	99,6
« INRA 508 »	510	86,975	104,93	— 5,75	+ 1,25	100,4
Témoins « prolifiques »:						
A 632 × Yu 1071	450	87,950	106,11	— 3,50	— 4,85	97,8
A 632 × F 576	600	85,950	103,69	— 11,25	— 1,80	90,6
A 632 × F 483 E	500	84,575	102,04	— 5,25	+ 1,05	97,8
A 632 × T 115	700	104,625	126,23	— 17,50	— 1,50	107,5
A 632 × 1278	650	99,050	119,50	— 14,50	— 6,30	98,7
Lignées « prolifiques » à juger:						
A 632 × FF.F 49 n° 10	420	87,950	106,11	— 2,50	— 1,05	104,7
A 632 × FF.F 49 n° 36	500	91,825	110,78	— 5,50	+ 0,90	106,2
A 632 × FF.F 52 n° 31	420	84,375	101,79	— 2,75	— 0,40	98,6
A 632 × FF.F 52 n° 43	410	88,425	106,68	— 1,75	— 0,25	104,7
A 632 × FF.F 52 n° 71	470	87,850	105,99	— 4,50	— 1,05	100,4
A 632 × FF.F 52 n° 108	500	92,575	111,69	— 6,25	— 0,10	105,3
A 632 × FF.F 64 n° 47	650	91,475	110,36	— 12,50	— 1,10	96,8
A 632 × FF.F 64 n° 74	480	89,100	107,50	— 8,25	— 0,70	98,6
A 632 × FF.F 64 n° 83	650	94,425	113,92	— 13,00	— 0,70	100,2
A 632 × FF.Yu 11 n° 147 ..	450	82,375	99,38	— 3,50	0	95,9
A 632 × FF.Yu 21 n° 62 ...	400	88,850	107,19	0	— 0,70	106,5
A 632 × FF.Yu 1071 n° 80 .	580	91,375	110,24	— 8,75	+ 0,75	102,2
A 632 × FF.Yu 1641 n° 32 .	590	86,425	104,27	— 9,25	— 1,70	93,3
A 632 × FF.Yu 1641 n° 166.	570	91,525	110,42	— 7,00	— 4,80	98,6
Autre témoin « prolifique »:						
Yu 1071 × F 576	590	92,675	111,81	— 9,50	— 1,70	100,6

(1) Indice approximatif, échelle F.A.O.

(2) *Système de cotation.*

La note finale est égale à la somme de la note de rendement, des points de précocité et de « résistance » :

— note de rendement = rendement relatif par rapport aux témoins « Star 304 » et « INRA 508 » ;

— points de précocité = écart entre la teneur en eau du grain et celle de la moyenne des témoins changé de signe et multiplié par le coefficient 2,5 ;

— points de « résistance » :

- résistance à la verse des tiges = écart entre la note de verse et celle de la moyenne des témoins multiplié par le coefficient 1,5 ;
- vigueur du départ de la végétation = écart entre la note de vigueur et celle de la moyenne des témoins.

ficité en épis entre hybrides, des différences importantes qui se maintiennent dans l'espace et dans le temps (tabl. 17 A et 18 A).

Pour les hybrides étudiés (d'indices de maturité supérieurs à 400 — échelle F.A.O. — la variété est d'autant plus tardive que l'indice est élevé) il ne semble pas y avoir de relation entre les caractères : prolificité en épis et tardiveté.

La sélection en vue de l'amélioration de la résistance à la verse des lignées « prolifiques » a été efficace si l'on en juge d'après les résultats des hybrides obtenus, comparés à ceux de « Star 304 » et « INRA 508 » connus pour leur résistance ; il est vrai que la résistance à la verse de la lignée A 632 intervient beaucoup dans celle manifestée par l'hybride.

TABLEAU 18 A

Jugement de la valeur hybride de lignées prolifiques en épis croisées avec la lignée A 632 (Saint-Martin-de-Hinx (SM) et Montpellier (Mtp), 1974)

I. — *Éléments*

Variétés	Nombre d'épis pour 100 plantes		Rendement grain 15 % eau (q/ha)		% en eau du grain	Verse	Vigueur départ
	SM	Mtp	SM	Mtp			
1° *Témoins « normaux » :*							
« Star 304 »	95	94	72,0	84,3	24,5	4,0	4,0
« INRA 508 »	96	94	77,3	100,1	28,4	6,0	4,0
Moyenne	96	94	74,7	92,2	26,5	5,0	4,0
2° *Lignées « prolifiques » à juger :*							
A 632 × FF.F 49 bl n° 30	115	116	87,4	95,1	25,8	6,0	4,0
A 632 × FF.F 49 bl n° 34	108	142	83,4	108,4	26,4	7,5	4,0
A 632 × FF.F 49 bl n° 75	107	116	93,1	99,5	27,1	6,4	4,0
A 632 × FF.F 49 bl n° 103	107	117	89,4	98,1	27,5	6,4	4,0
A 632 × FF.F 49 j n° 176	118	142	80,0	100,9	27,6	5,9	3,5
A 632 × FF.F 68 n° 50	109	128	81,0	112,2	31,5	6,6	3,0
A 632 × FF.Yu 11 n° 1	100	105	90,4	97,8	29,0	5,6	2,5
A 632 × FF.Yu 11 n° 25	100	108	83,6	95,1	28,4	5,8	3,5
A 632 × FF.Yu 11 n° 146	108	123	79,8	106,8	30,2	7,0	3,5
A 632 × FF.Yu 1071 n° 3	102	104	84,6	91,5	27,8	6,9	3,0
A 632 × FF.Yu 1071 n° 45	118	122	78,8	101,2	29,6	7,7	3,5
A 632 × FF.Yu 1081 n° 80	119	131	84,3	95,2	25,5	6,8	3,5
A 632 × FF.IN 369 n° 98	107	123	73,5	105,2	28,6	7,1	3,5
A 632 × (F 520 × Yu 1071) n° 56	103	115	88,0	101,1	26,2	6,5	3,5
A 632 × (F 64 × Yu 1071) n° 97	106	115	92,6	107,7	29,0	5,4	3,5
A 632 × (F 482 × F 52) n° 65	102	96	87,2	92,7	26,3	5,4	3,5
Moyenne	108	119	84,8	100,5	27,9	6,4	3,5

Les lignées « prolifiques » reportées dans les tableaux 17 et 18 ont été choisies après une année d'expérimentation ; ce sont en effet celles qui se sont bien comportées pour la production de grains, soit à Saint-Martin-de-Hinx, soit à Montpellier, soit dans les deux situations à la fois. En 1974, la réponse des hybrides à Saint-Martin-de-

Hinx et à Montpellier ne va pas dans le même sens. Les hybrides tardifs sont les plus productifs à Montpellier, les moins productifs à Saint-Martin-de-Hinx. Dans cette dernière situation les précipitations abondantes, accompagnées de tornades, de l'arrière-saison ont provoqué une verse précoce des tiges endommageant surtout les variétés tardives. Les tableaux 17 B et 18 B donnent le rendement moyen et la note finale de chaque hybride comparativement aux hybrides témoins. Nous observons des progrès substantiels, étant donné la valeur agronomique élevée des hybrides témoins « Star 304 » et « INRA 508 », entre autres, ceux obtenus avec la lignée FF.Yu 21 n° 62 avec la note 106,5 (tabl. 17 B).

TABLEAU 18 B

Jugement de la valeur hybride de lignées prolifiques en épis croisées avec la lignée A 632

(Saint-Martin-de-Hinx et Montpellier, 1974)

II. — *Rendement moyen et cotation finale*

Variétés	Indice de maturité (1)	Rendement moyen (q/ha)	Rendement relatif = note (2)	Somme points précocité (2)	Somme points résistance (2)	Note finale (2)
1° *Témoins « normaux »:*						
« Star 304 »	310	78,15	93,677	+ 4,875	— 1,500	97,1
« INRA 508 »	510	88,70	106,323	— 4,875	+ 1,500	102,9
2° *Lignées « prolifiques » à juger:*						
A 632 × FF.F 49 bl n° 20	380	91,25	109,380	+ 1,625	+ 1,500	112,5
A 632 × FF.F 49 bl n° 34	400	95,90	114,954	+ 0,125	+ 3,750	118,8
A 632 × FF.F 49 bl n° 75	420	96,30	115,433	— 1,625	+ 2,100	115,9
A 632 × FF.F 49 bl n° 103	450	93,75	112,376	— 2,625	+ 2,100	111,9
A 632 × FF.F 49 j n° 176	450	90,45	108,421	— 2,875	+ 0,850	106,4
A 632 × FF.F 68 n° 50	650	96,60	115,793	— 12,625	+ 1,400	104,6
A 625 × FF.Yu 11 n° 1	550	94,10	112,796	— 6,375	+ 0,600	105,8
A 632 × FF.Yu 11 n° 25	510	89,35	107,102	— 4,875	+ 0,700	102,9
A 632 × FF.Yu 11 n° 146	600	93,30	111,837	— 9,375	+ 2,500	105,0
A 632 × FF.Yu 1081 n° 80	350	89,75	107,582	+ 2,375	+ 2,200	112,2
A 632 × FF.IN 369 n° 98	530	89,35	107,102	— 5,375	+ 2,650	104,4
A 632 × (F 520 × Yu 1071) n° 56	400	94,55	113,335	+ 0,625	+ 1,750	115,7
A 632 × (F 64 × Yu 1071) n° 97	550	100,15	120,048	— 6,375	+ 0,100	113,8
A 632 × (F 482 × F 52) n° 65	400	89,95	107,821	+ 0,375	+ 0,100	108,3

(1) Indice approximatif, échelle F.A.O.
(2) Voir tableau 17 B.

Ces premiers résultats sont très prometteurs si l'on considère le peu de temps et de moyens utilisés pour les obtenir et le peu de valeur du matériel végétal disponible au départ du programme.

L'obtention de lignées prolifiques en épis, à partir de matériel de départ plus

diversifié génétiquement, en cours de préparation, par la mise en œuvre de méthodes de sélection plus efficaces, comme celle conseillée par HALLAUER, devrait permettre la production d'hybrides plus régulièrement productifs et à niveau de productivité en grain plus élevé que celui des hybrides actuellement cultivés.

Reçu pour publication en février 1976.

SUMMARY

DEVELOPMENT OF VARIETIES OF MAIZE-GRAIN WITH EAR PROLIFICACY FOR WIDE ECOLOGICAL ADAPTATION

The development of maize-grain hybrids with ear prolificacy would permit an increase and stabilization of the level of grain production. After situating the moment of the differentiation of the female inflorescences in the live cycle of the plant, the authors study these in comparison with the growth and development of the male inflorescence. They have concluded, the way to select ear prolific inbred lines is to choose plants whose flowering of the female inflorescences follows in a short space of time and if possible begins before the flowering of the male inflorescence. Looking at an earlier test for ear prolificacy, they research for a relationship between ear prolificacy and high enzymatic activity for nitrate reductase.

Authors examine the effect of environmental factors on the ear prolificacy expression to evaluate with accuracy the participation of the genotype in connection with this character. As compared to one eared varieties, prolific varieties are more tolerant to shading and support dense plant population, the major grain yield component. An ear prolificacy index has been established classifying with accuracy vegetal material.

Since heritability of ear prolificacy is modified by environmental factors a technic has been given to select true prolific inbred lines. In view of their knowledge, they estimate, that the polygenic character « ear prolificacy » is under control of laws of quantitative heredity.

Pointing out the interest of the reciprocal full-sib selection method outlined by HALLAUER, they describe the breeding method used for the development of ear prolific hybrids. The breakage of undesirable linked characters in connection with ear prolificacy, as reduced sizes of ears for instance, is undertaken in several ways.

The first results concerning performances in the hybrid combination of ear prolific inbred lines developed by the authors are mentionned ; they are promising.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANDERSON I. C., 1967. Plant characteristics that affect yield. *Proc 22th annual hybrid Corn Industry-Res. Conf.* American Seed Trade Association Chicago, december 13-14.

ANDERSON I. C., 1971. Possible pratical applications of chemical pollen control in corn and sorghum seed production. *Proc. 22th annual Corn and Sorghum Res.-Conf.* American Seed Trade Association, Chicago, december 14-16.

BAUMAN L. F., 1960. Relative yields of first (apical) and second ears of semi-prolific southern corn hybrids. *Agron. J.*, **52** (4), 220-222.

BERTIN Ch., DUPIN M., 1970. Étude comparative du développement et de la croissance des épis d'une lignée prolifique en épis et d'une lignée normale de maïs. *Symposium franco-roumain sur l'Amélioration du Maïs et du Tournesol*, Bucarest.

BONNETT O. T., 1953. Developmental morphology of the vegetative and floral shoots of Maize. *Bulletin Univer. Illinois. agric. exper. Stat.*, nº 568, 47 p.

CHAO, CHUAN YING, 1959. Heterotic effects of a chromosomal segment in maize. *Genetics*, **44**, 657-677.

DUVICK D. N., 1974. Continuous backcrossing to tranfer prolificacy to single-eared inbred line of maize. *Crop Sci.*, **14** (1), 69-71.

EARLEY E. B. *et al.*, 1966. Effects of shade on maize production under field conditions. *Crop Sci.*, **6** (1), 1-7.

EASTIN J. A., 1972. Photosynthese distribution in prolifics materials (Unpublished data).

EBERHART S. A., RUSSELL W. A., 1966. Stability parameters for comparing varieties. *Crop Sci.*, **6** (1), 36-40.

GROGAN C. O., SARVELLA P., SANFORD J. O., JORDAN H. V., 1965. Influence of cytoplasmic sterility on dry matter accumulation in maize (*Zea mays* L.). *Crop Sci.*, **5** (4), 365-367.

HAGEMAN R. H., EARL R. Leng, 1960. Interrelationships of plant populations, shading and nitrate metabolism. *Minutes Meet. North Central Corn Breeding Research Committee*, 12-13.

HAGEMAN R. H., HUCKLESBY D. P., 1970. Nitrate-reductase from higher plants. *Methods Enzymol.*, **23**, 491-503.

HALLAUER A. R., 1967. Performance of single cross hybrids developed from two ear varieties. *Proc. 22th annual hybrid Corn Industry-Res. Conf.* American Seed Trade Association, 74-81.

HALLAUER A. R., 1967. Development of single-cross hybrids from two-eared maize populations. *Crop Sci.*, **7** (3), 192-195.

HALLAUER A. R., TROYER A. F., 1972. Prolific corn hybrids and minimizing risk of stress. *Proc. 22th annual Corn and Sorghum Res. Conf.* American Seed Trade Association, 140-157.

HALLAUER A. R., 1974. Heritability of prolificacy in maize. *J. Hered.*, **65** (3), 163-168.

JOSEPHSON L. M., 1961. Combining prolificacy and earliness. *Proc. 16th annual hybrid Corn Industry Res. Conf.* American Seed Trade Association, 45-52.

LAIBLE Ch. A., DIRKS V. A., 1968. Genetic variance and selective value of ear number in corn (*Zea mays* L.) *Crop Sci.*, **8** (5), 540-543.

LONNQUIST J. H., 1967. Mass Selection for prolificacy in maize. *Züchter*, **37** (4), 185-188.

LONNQUIST J. H., WILLIAMS N. E., 1967. Development of maize hybrids through selection among full-sib families. *Crop Sci.*, **7** (4), 369-370.

MESSIAEN C. M., 1963. *Physiologie du développement chez* Zea mays. Thèse de Doctorat d'État-Université d'Aix-Marseille.

MONTEAGUDO A., 1971. Ear number and yield in maize. *Proc. 6th Meeting of EUCARPIA. Maize and Sorghum section.* Freesing, Weihenstephan, September 14-17.

MOSS D. N., STINSON H. T., 1961. Differential response of corn hybrids to shade. *Crop Sci.*, **1** (6), 416-418.

MOSS G. I., DOWNEY L. A., 1971. Influence of drought stress on female gametophyte development in corn (*Zea mays* L.) and subsequent grain yield. *Crop Sci.*, **11** (3), 368-372.

RAUTOU S., 1949. Sur le développement de l'épi de maïs et l'appréciation de la maturité. *Progrès agric. et vitic.*, nos 21, 22.

RAUTOU S., 1963. Maïs et sécheresse. *Progrès agric. et vitic.*, nos 18, 20, 21, 22, 23, 24.

RINKE E. H., SENTZ J. C., 1961. Moving corn-belt germ-plasm northward. *Proc. 6th annual hybrid Corn Industry Res. Conf.* American Seed Trade Association, 52-56.

RUSSELL W. A., 1968. Testcrosses of one-and two-ear types of Corn Belt maize inbreds. I. Performance at four plant stand densities. *Crop Sci.*, **8** (2), 244-247.

RUSSELL W. A., EBERHART S. A., 1968. Testcrosses of one-and two ear types of Corn Belt maize inbreds. II. Stability of performance in different environments. *Crop Sci.*, **8** (2), 248-251.

SANFORD J. O., GROGAN C. O., BRUCE R. R. *et al.*, 1964. Nitrogen distribution in corn strain affected by male sterile cytoplasm. *Proc. Assoc. So. Agr. Workers*, **61**, 68-69.

SASS J. E., LOEFFEL F. A., 1959. Development of axillary buds in maize in relation to barrenness. *Agron. J.*, **51** (8), 484-486.

STINSON H. T. jr., MOSS D. N., 1960. Some effects of shade upon corn hybrids tolerant and intolerant of dense planting. *Agron. J.*, **52** (8), 482-484.

STINSON H. T., 1961. Some possibilities for breeding hybrids tolerant of dense plantings. *Rep. 16th northeastern Corn Improvement Conference.* Agricultural Research Service U.S.D.A.

TSOTSIS B., 1972. Objectives of Industry breeders to make efficient and significant advances in the future. *Proc. 27th annual Corn and Sorghum Conf.* American Seed Trade Association, december 12-14.

ZIESERL J. F., RIVENBARK W. L., HAGEMAN R. H., 1963. Nitrate-reductase activity, protein content and yield of four maize hybrids at varying plant populations. *Crop Sci.*, **3**, 27-32.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (3), 419-441.

ANALYSE QUANTITATIVE DE L'AUTO- ET DE L'INTERFERTILITÉ CHEZ LA LUZERNE DIPLOIDE

Yvette DATTÉE

Laboratoire de Zoologie,
École normale supérieure,
46, Rue d'Ulm,
75230 Paris Cedex 05

RÉSUMÉ

Une analyse de l'auto- et de l'interfertilité des luzernes diploïdes (*Medicago sativa* spp. *coerulea*) a mis en évidence une variation de l'autofertilité selon les génotypes. Par ailleurs la production de graines en croisement dépend d'un effet spécifique du couple de parents.

L'étude des descendances révèle un déterminisme génétique de l'autofertilité, de l'aptitude femelle à la production de graines en croisement et de l'aptitude femelle au croisement frère × sœur.

Dans tous les cas où un effet de consanguinité est introduit (autofécondation ou croisement frère × sœur) de nombreux avortements d'embryons sont observés au cours de la maturation des ovules fécondés.

Les relations entre les performances individuelles en autofécondation, en croisement frère × sœur et en croisement entre non apparentés, sont interprétées par l'existence de deux effets : un effet lié à la consanguinité conditionnant essentiellement les produits d'autofécondations et une aptitude femelle à la fécondation et à la maturation des ovules fécondés conditionnant les produits des croisements.

INTRODUCTION

Dans le cadre d'une étude des facteurs génétiques liés à l'auto- et à l'interfertilité de la Luzerne cultivée (*Medicago sativa* L), un certain nombre de résultats concernant l'auto- et l'interfertilité ainsi que l'effet de l'apparentement sur la production de graines, ont déjà été présentés (DATTÉE, 1972, 1974 *a*, 1974 *b*). Parallèlement à ces études, des expériences ont aussi été effectuées sur quelques génotypes de *Medicago sativa* diploïde. Bien que la forme diploïde de *Medicago sativa* ne présente pas en France d'intérêt agronomique, il semble intéressant de présenter les résultats obtenus afin de permettre la comparaison des deux niveaux de ploïdie.

La forme diploïde de *Medicago sativa*, parfois appelée *Medicago sativa* spp. *coerulea* présente de grandes ressemblances avec la forme tétraploïde. Il existe cependant des différences importantes dans la taille des organes, et la coloration violette des fleurs est bien plus uniforme chez les diploïdes que chez les tétraploïdes. La biologie florale est la même pour les deux niveaux de ploïdie : les inflorescences sont des grappes, la fécondation ne peut avoir lieu sans le déclenchement de la fleur.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

Onze génotypes de *Medicago sativa* diploïde (numérotés de I à XI) ont été étudiés. Ces individus, tirés d'une population naturelle, sont issus de pollinisation libre. La compétition pollinique en faveur de l'allopollen et la très faible autofertilité des diploïdes permet donc de considérer que tous les génotypes analysés sont hétérozygotes pour de nombreux locus et d'attendre une hétérogénéité génétique importante des F_1.

Afin de disposer d'un nombre suffisant de fleurs, chaque individu a été bouturé. L'ensemble des boutures de chaque génotype, réparti sur une même rangée d'un bac de culture est traité comme un seul individu.

Les conditions de culture déjà décrites dans un article précédent (DATTÉE, 1972), ne seront pas exposées ici. Il en est de même pour les techniques d'autofécondation et de croisement (effectué sans castration). Il faut toutefois remarquer que la floraison des diploïdes est moins régulière que celle des tétraploïdes. De grandes différences entre les périodes de floraison des génotypes se sont manifestées.

A la suite de la réalisation de l'ensemble des croisements possibles entre les divers génotypes, une seconde expérience a été mise en place dans le but d'analyser les 16 descendances des croisements entre les femelles III et VIII et les mâles II, IV, V, VI, VII, IX, X et XI ; 6 individus représentant chaque F_1 ont été répartis au hasard dans un bac de culture.

Chaque individu devait être autofécondé, croisé avec chacun de ses frères et croisé avec un individu non apparenté de façon à analyser l'auto- et l'interfertilité de la descendance ainsi que l'effet de l'apparentement. Toutefois, certains sujets étant morts au cours de l'expérience, l'ensemble des résultats n'a pas été obtenu sur toutes les plantes : aucune mesure n'a pu être effectuée dans la descendance du croisement ♀ III × ♂ IV ; pour les autres descendances, le nombre d'individus analysés varie de 3 à 6.

Quel que soit le type de pollinisation effectuée : autofécondation, croisement frère × sœur, croisement avec un témoin, la fréquence de formation des gousses, le nombre de graines par gousse et le nombre de graines par fleur ont été mesurés à deux périodes : trois jours après la fécondation et à la maturation (DATTÉE, 1975).

Les mesures à la maturation sont obtenues à partir d'environ 35 fleurs croisées pour chaque croisement et 50 fleurs autofécondées. Les autres mesures sont obtenues en disséquant, environ 72 heures après la pollinisation, 20 fleurs pollinisées pour chaque croisement et chaque autofécondation. En effet, à cette période la dissection des ovaires permet de dénombrer facilement les ovules fécondés en cours de développement. Les ovules non fécondés ou avortés durant les premiers stades du développement sont alors complètement flétris.

A titre d'exemple, la figure 1 met en évidence les différences de taille et de forme entre des ovules d'une fleur vierge et des ovules d'une fleur (autofécondée ou croisée) trois jours après la pollinisation. Ces photos ont été obtenues à partir de luzernes tétraploïdes mais, mise à part une différence de taille de l'ovaire, les manifestations du développement des ovules fécondés sont exactement les mêmes chez les diploïdes.

Du fait du déséquilibre des données expérimentales et pour des raisons de simplicité de calcul, les analyses statistiques de l'auto- et de l'interfertilité des descendances sont faites en deux étapes successives. Une première étape consiste à analyser séparément les résultats des descendances de la ♀ III et de la ♀ VIII selon le modèle :

$$X_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_{ij} + E_{jk} + F_{ijk}$$

où X_{ijk} est la performance du k^e individu de la descendance du génotype ♂j mesuré à la période i

α_i l'effet de la période de mesure (trois jours après la fécondation ou maturation) ($\sum_i \alpha_i = 0$)

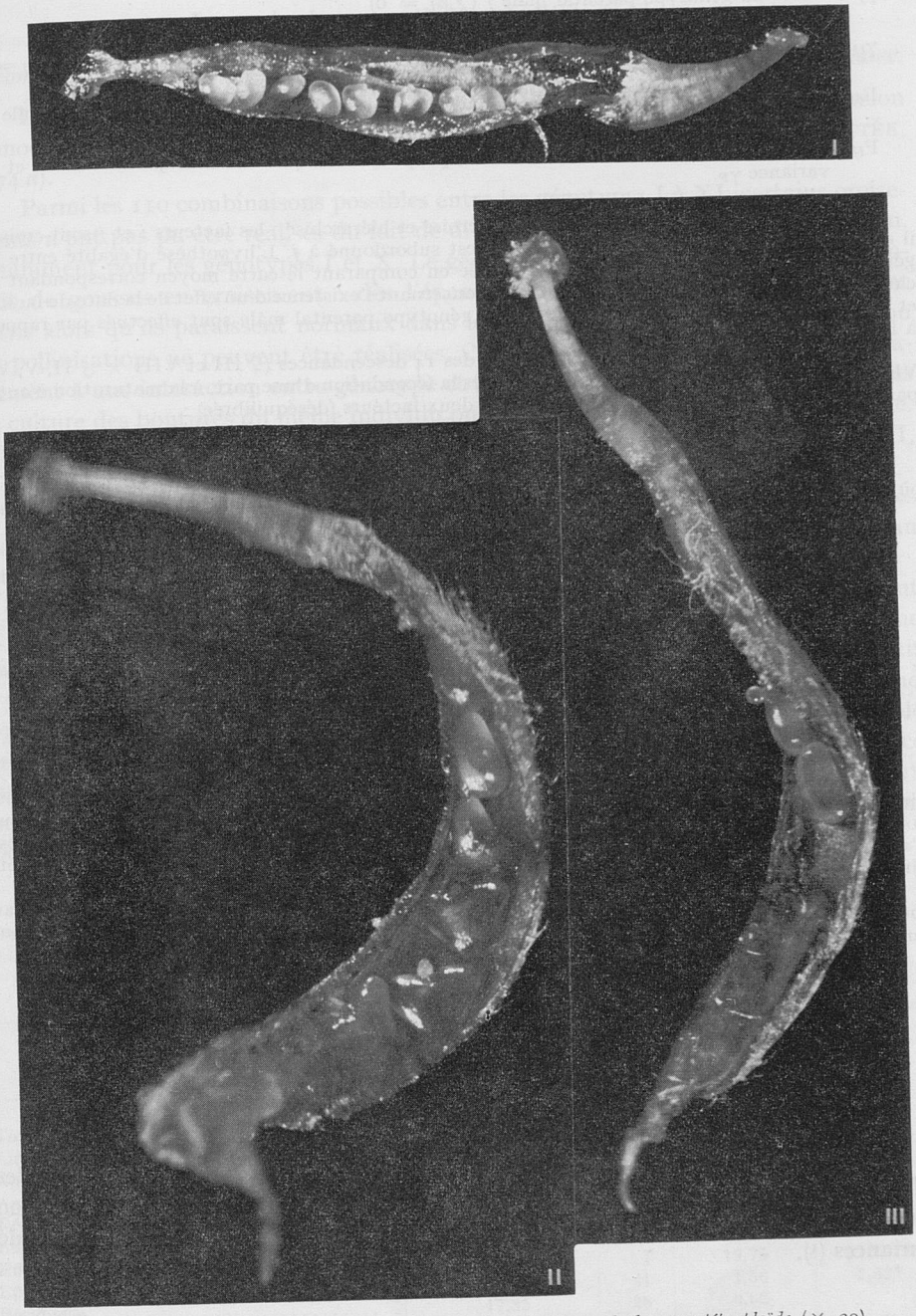


FIG. 1. — *Photographies de dissections d'ovaires de fleurs de luzerne tétraploïde* (× 20)

I ovaire d'une fleur vierge,
II ovaire d'une fleur trois jours après une allopollinisation
III ovaire d'une fleur trois jours après une autopollinisation

β_j l'effet du génotype parental mâle j ($\sum_j \beta_j = 0$)

γ_{ij} l'interaction entre le génotype parental mâle j et la période de mesure i ($\sum_i \gamma_{ij} = \sum_j \gamma_{ij} = 0$)

E_{jk} une variable aléatoire associée à l'individu k issu du génotype j, d'espérance nulle et de variance γ_E.

F_{ijk} une variable aléatoire associée au couple jk et à la période i d'espérance nulle et de variance γ_F.

Remarquons que ce modèle est à la fois croisé et hiérarchisé : les facteurs i et j sont croisés, il en est de même pour i et k, tandis que k est subordonné à j. L'hypothèse d'égalité entre les génotypes parentaux mâles est donc éprouvée en comparant le carré moyen correspondant au carré moyen de l'interaction $j \times k$. Les tests concernant l'existence d'un effet de la date de mesure et d'une interaction entre date de mesure et génotype parental mâle sont effectués par rapport à l'estimation de γ_F.

Dans une seconde étape, la comparaison des 14 descendances (♀ III et VIII × ♂ II, V, VI, VII, IX, X et XI) est effectuée trois jours après la fécondation d'une part, à la maturation d'autre part, selon un modèle d'analyse de variance à deux facteurs (déséquilibrée) :

$$X_{ijk} = \mu + a_i + b_j + c_{ij} + E_{ijk}$$

où X_{ijk} est la mesure de l'individu k issu du croisement entre le génotype femelle i et le génotype mâle j.

μ la moyenne générale

a_i l'effet du génotype parental femelle i ($\sum_i a_i = 0$)

b_j l'effet du génotype parental mâle j ($\sum_j b_j = 0$)

c_{ij} une interaction entre les génotypes parentaux ($\sum_i c_{ij} = \sum_j c_{ij} = 0$)

E_{ijk} une variable aléatoire d'espérance nulle et de variance γ.

Lorsqu'une interaction entre les génotypes parentaux sera mise en évidence, les effets directs ne seront pas testés mais l'existence d'un effet spécifique du couple de parents implique obligatoirement l'existence de différences entre les parents. En revanche, lorsque l'hypothèse d'absence d'interaction pourra être admise, les hypothèses concernant l'existence des effets directs pourront alors être éprouvées.

La première étape permet donc essentiellement d'analyser l'évolution de la fertilité au cours de la maturation pour chaque mode de pollinisation, tandis que la seconde étape a pour but de rechercher la nature héréditaire du caractère étudié.

PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

Le but essentiel de la présentation des résultats concernant la fertilité des *Medicago sativa* diploïdes étant d'apporter les éléments nécessaires à la comparaison des deux degrés de ploïdie, seuls seront présentés ici les résultats des analyses de variances (1).

(1) N. B. — Le lecteur intéressé par les mesures individuelles ou moyennes de la fertilité présentées dans la thèse (DATTÉE, 1975) pourra se reporter aux tableaux A 13, A 14, A 15, T 32, T 33, T 34, pour les mesures de l'autofertilité, T 58, T 62, T 66, T 101, T 102, T 103, A 30, A 31, A 32, pour les mesures de l'interfertilité des génotypes parentaux et des descendances étudiées et T 125, T 126, T 127, A 34, A 35, A 36, pour les mesures de la fertilité en croisement frère × sœur.

I. — *Analyse quantitative de l'interfertilité*

Décomposition de la production de graines en croisement pour les génotypes parentaux.

L'analyse statistique de la production de graines en croisement sera faite selon le modèle déjà utilisé chez les tétraploïdes (CHALBI, 1969 ; GALLAIS, 1972 ; DATTÉE, 1974 *a*).

Parmi les 110 combinaisons possibles entre les génotypes I à XI, certains croisements n'ont pas pu être réalisés du fait de différences entre les périodes de floraison, notamment pour les génotypes I et X. Le génotype IV, quant à lui, n'a jamais produit de gousses en croisement : dès l'épanouissement des fleurs, les ovules sont flétris alors qu'ils paraissent normaux dans les boutons floraux, mais à un stade où les pollinisations ne peuvent être réalisées. Cette stérilité femelle correspond probablement à une interaction entre génotype et milieu puisque dans d'autres conditions de culture des boutures du même individu ont produit des gousses de façon normale. L'analyse de l'interfertilité porte donc sur les 56 croisements entre les génotypes II, III, V, VI, VII, VIII, IX et XI.

Deux lots de 20 gousses au maximum ont été constitués par tirage au sort des gousses au sein de chaque croisement. Le nombre moyen de graines par gousse d'un lot est considéré comme une répétition.

L'analyse de variance met en évidence une aptitude générale au croisement et un effet différentiel parental significatifs à 1 p. 100 (tabl. 1). L'aptitude spécifique au croisement est significative à 1 p. 100, l'effet différentiel particulier est significatif à 5 p. 100. La production de graines en croisement chez la Luzerne diploïde dépend donc du parent mâle, du parent femelle ainsi que d'un effet spécifique du couple de parents. De plus, l'effet spécifique du couple dépend du sens du croisement, ce qui n'apparaissait pas dans l'étude des luzernes tétraploïdes (DATTÉE, 1974 *a*). Les interactions entre les génotypes parentaux ne sont donc pas essentiellement localisées au niveau du génotype de l'embryon.

TABLEAU I

Interfertilité des luzernes diploïdes

Résultats de l'analyse de variance du nombre moyen de graines par gousse

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Totale	262,74	111		
Liée aux sommes	74,30	55		
Aptitude générale au croisement	43,48	7	6,21	10,52**
Aptitude particulière au croisement	54,24	20	2,71	4,59**
Résiduelle	16,58	28	0,59	
Liée aux différences	188,44	56		
Effet différentiel parental	138,28	7	19,75	31,85**
Effet différentiel particulier	32,81	21	1,56	2,52*
Résiduelle	17,35	28	0,62	

N. B. : * significatif à 5 p. 100
** significatif à 1 p. 100.

Les estimations des effets parent femelle et parent mâle montrent que les différences entre les valeurs polliniques sont aussi importantes que les différences entre les effets femelles (tabl. 2).

TABLEAU 2

Analyse de l'interfertilité des luzernes diploïdes
Estimations des effets parent femelle (α_i) et parent mâle (β_j)

Génotype n°	II	III	V	VI	VII	VIII	IX	XI
α_i	— 0,34	— 0,44	1,43	— 1,54	1,01	0,75	— 0,80	— 0,06
β_j	0,62	1,02	— 1,72	— 0,57	— 0,42	0,42	0,15	0,49

Par ailleurs, la corrélation entre le nombre moyen de graines par gousse produit par un individu femelle dans l'ensemble des croisements et le nombre moyen d'ovules par ovaire du même individu n'est pas significative au seuil de 5 p. 100 (DATTÉE, 1975). Il en est de même pour la corrélation entre la fréquence des ovules arrivant à maturation (mesurée par le rapport du nombre moyen de graines par gousse au nombre moyen d'ovules par ovaire) et le nombre moyen d'ovules par ovaire. Chez les diploïdes comme chez les tétraploïdes, le nombre d'ovules par ovaire n'est donc pas le facteur limitant de la production de graines.

Analyse de l'interfertilité de la descendance.

Tous les individus F_1 étudiés ont été croisés avec un individu témoin pris au hasard dans une population de diploïdes.

a) *Comparaison de l'interfertilité au deux périodes de mesure, au sein des descendances de chaque génotype femelle.*

Dans les descendances des deux génotypes femelles, un effet important du stade de mesure est mis en évidence pour la fréquence de formation des gousses et pour le nombre de graines par fleur (tabl. 3 et 4). En revanche pour le nombre de graines par gousse, l'effet du stade de mesure n'est pas significatif dans les descendances du génotype III et significatif au seuil de 5 p. 100 dans les descendances du génotype VIII. De plus aucune interaction entre le génotype parental mâle et le stade de mesure n'est révélée.

Il semble donc que la diminution du nombre moyen de graines par gousse dans la période comprise entre trois jours après la fécondation et la maturation est, en croisement, peu importante. Il n'en est pas de même pour la fréquence de formation des gousses. Comme la diminution de la fréquence de formation des gousses ne s'accompagne pas d'une variation notable du nombre de graines par gousse, il est possible que la chute des gousses ait lieu au hasard quel que soit le nombre de graines contenues.

Toutefois, une chute sélective des gousses contenant seulement un ou deux ovules fécondés et des avortements d'ovules dans les ovaires contenant un grand nombre d'ovules fécondés, pourraient également aboutir à une diminution de la fréquence de formation des gousses au cours de la maturation sans qu'une variation

TABLEAU 3

Analyse de l'effet parent femelle en croisement chez les luzernes diploïdes. Évolution de l'interfertilité dans les descendances du génotype III au cours de la maturation

I. — Résultats de l'analyse de variance de la fréquence de formation des gousses

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Période de mesure	1,9288	1	1,9288	83,86**
Génotype parental ♂	0,2063	6	0,0344	NS
Interaction période de mesure × génotype ♂	0,0901	6	0,0150	NS
Individu/famille Res 1	1,2391	20	0,0619	
Res 2 ($\hat{Y}_F$)	0,4597	20	0,0230	

Données transformées en Arcsin $\sqrt{\ }$ (transformation angulaire de Bliss)

II. — Résultats de l'analyse de variance du nombre de graines par gousse

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Période de mesure	3,5464	1	3,5464	2,24
Génotype parental ♂	47,2814	6	7,8802	2,11
Interaction période de mesure × génotype ♂	12,9837	6	2,1639	1,37
Individu/famille Res 1	74,5536	20	3,7277	
Res 2 ($\hat{Y}_F$)	31,6426	20	1,5821	

III. — Résultats de l'analyse de variance du nombre de graines par fleur

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Période de mesure	30,4280	1	30,4280	18,07**
Génotype parental ♂	48,3611	6	8,0602	1,86
Interaction période de mesure × génotype ♂	14,6587	6	2,4431	1,45
Individu/famille Res 1	86,7645	20	4,3382	
Res 2 ($\hat{Y}_F$)	33,6846	20	1,6842	

N. B. : ** significatif à 1 p. 100.

TABLEAU 4

Analyse de l'effet parent femelle en croisement chez les luzernes diploïdes. Évolution de l'interfertilité dans les descendances du génotype VIII au cours de la maturation

I. — Résultats de l'analyse de variance de la fréquence de formation des gousses

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Période de mesure	1,4521	1	1,4521	77,24**
Génotype parental ♂	0,4973	7	0,0710	2,75*
Interaction période de mesure × génotype ♂	0,2021	7	0,0289	1,54
Individu/famille Res 1	0,6204	24	0,0258	
Res 2 (γ_F)	0,4504	24	0,0188	

Données transformées en Arcsin $\sqrt{\ }$ (transformation angulaire de Bliss).

II. — Résultats de l'analyse de variance du nombre de graines par gousse

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Période de mesure	4,9567	1	4,9567	4,48*
Génotype parental ♂	62,1200	7	8,8743	2,75*
Interaction période de mesure × génotype ♂	4,0932	7	0,5847	NS
Individu/famille Res 1	77,5045	24	3,2293	
Res 2 (γ_F)	26,5709	24	1,1071	

III. — Résultats de l'analyse de variance du nombre de graines par fleur

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Période de mesure	23,5327	1	23,5327	18,02**
Génotype parental ♂	84,0959	7	12,0137	3,86**
Interaction période de mesure × génotype ♂	4,6235	7	0,6605	NS
Individu/famille Res 1	74,6197	24	3,1091	
Res 2 (γ_F)	31,3424	24	1,3059	

N. B. : * significatif à 5 p. 100
** significatif à 1 p. 100

notable du nombre moyen de graines par gousse ne se manifeste. Seule la comparaison des distributions du nombre de graines par gousse trois jours après la fécondation et à la maturation permettrait de trancher entre les deux hypothèses formulées.

b) *Nature héréditaire de l'effet parent femelle en croisement.*

Pour le nombre de graines par gousse comme pour le nombre de graines par fleur, les résultats des analyses de variance montrent que l'aptitude moyenne à la production de graines en croisement d'une descendance dépend d'un effet spécifique du couple de génotypes parentaux quel que soit le stade de mesure (tabl. 5 et 6).

TABLEAU 5

Analyse génétique de l'effet parent femelle en croisement, mesuré trois jours après la fécondation, chez les luzernes diploïdes

I. — Résultats de l'analyse de variance du nombre de graines par gousse

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Interaction entre les génotypes parentaux...	40,7571	6	6,7928	2,34*
Résiduelle	124,7878	43	2,9020	

II. — Résultats de l'analyse de variance du nombre de graines par fleur

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Interaction entre les génoytpes parentaux...	49,6510	6	8,2752	2,51*
Résiduelle	141,6371	43	3,2930	

N. B. : * significatif à 5 p. 100.

L'effet parent femelle en croisement est donc bien un caractère à déterminisme génétique.

Le faible nombre de descendances analysées ne permet pas d'apporter de précisions sur l'importance relative des effets d'additivité et des interactions. Cependant quelques indications ont pu être obtenues en comparant les classements des génotypes parentaux à ceux de leurs descendances (Dattée, 1975). La corrélation de rang entre le classement des génotypes parentaux II, V, VI, VII, IX, X et XI pour leur production de graines et leurs effets directs sur la descendance à la maturation égale à 0,47 n'est pas significative. Le meilleur génotype parental (V) présente toutefois l'effet positif le plus élevé sur la descendance, tandis que le plus mauvais (VI) transmet l'effet négatif le plus important. Des résultats analogues ont été obtenus avec des luzernes tétraploïdes ; la part des effets additifs sur l'aptitude

à la production de graines en croisement n'est donc peut-être pas négligeable. Les interactions entre les génotypes parentaux semblent toutefois importantes car les classements des parents mâles varient selon le parent femelle.

TABLEAU 6

Analyse génétique de l'effet parent femelle en croisement, mesuré à la maturation, chez les luzernes diploïdes

I. — Résultats de l'analyse de variance du nombre de graines par gousse

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Interaction entre les génotypes parentaux...	32,9748	6	5,4958	2,89*
Résiduelle	79,8443	42	1,9010	

II. — Résultats de l'analyse de variance du nombre de graines par fleur

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Interaction entre les génotypes parentaux...	46,1885	6	7,6981	4,08**
Résiduelle	79,2668	42	1,8873	

N. B. : * significatif à 5 p. 100
** significatif à 1 p. 100

II. — *Analyse des croisements frère × sœur*

Chaque individu F_1 a été croisé avec un ou plusieurs de ses frères. Parmi les 174 croisements effectués, aucun ne s'est montré totalement stérile trois jours après la fécondation et 4 seulement n'ont pas formé de gousses à la maturation. Ces 4 croisements stériles mettent en jeu trois individus de la famille ♀ III × ♂ V dans laquelle les autres croisements frère × sœur ont toujours produit peu de gousses.

Toutes les analyses statistiques sont effectuées à partir des performances moyennes de chaque individu dans l'ensemble des croisements avec ses frères.

a) *Comparaison de la fertilité des croisements frère × sœur aux deux périodes de mesure au sein des descendances de chaque génotype femelle.*

Dans la descendance du génotype III les effets de la période de mesure et du génotype parental mâle sont hautement significatifs (tabl. 7). L'interaction entre les effets directs est hautement significative pour le nombre de graines par gousse et par fleur. Il semble donc exister une évolution différentielle du nombre de graines par gousse ou par fleur selon les familles et la période de mesure.

Dans la descendance du génotype VIII, l'effet de la période de mesure est

TABLEAU 7

Analyse des croisements frère × sœur chez les luzernes diploïdes.
Évolution de la fertilité en croisement frère × sœur
dans les descendances du génotype III au cours de la maturation

I. — Résultats de l'analyse de variance de la fréquence de formation des gousses

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Période de mesure	2,4900	1	2,4900	270,65**
Génotype parental ♂	2,5224	6	0,4204	11,45**
Interaction période de mesure × génotype ♂	0,0953	6	0,0159	1,73
Individu/famille Res 1	0,7348	20	0,0367	
Res 2 ($\hat{\gamma}_F$)	0,1851	20	0,0092	

Données transformées en Arcsin $\sqrt{}$ (transformation angulaire de Bliss).

II. — Résultats de l'analyse de variance du nombre de graines par gousse

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Période de mesure	11,9945	1	11,9945	92,98**
Génotype parental ♂	22,5630	6	3,7605	7,83**
Interaction période de mesure × génotype parental ♂	3,3678	6	0,5613	4,35**
Individu/famille Res 1	9,6014	20	0,4801	
Res 2 ($\hat{\gamma}_F$)	2,5797	20	0,1290	

III. — Résultats de l'analyse de variance du nombre de graines par fleur

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Période de mesure	23,6919	1	23,6919	147,89**
Génotype parental ♂	31,8147	6	5,3024	10,03**
Interaction période de mesure × génotype ♂	5,4300	6	0,9050	5,65**
Individu/famille Res 1	10,5702	20	0,5285	
Res 2 ($\hat{\gamma}_F$)	3,2037	20	0,1602	

N. B. : ** significatif à 1 p. 100.

TABLEAU 8

Analyse des croisements frère × sœur chez les luzernes diploïdes.
Évolution de la fertilité en croisement frère × sœur
dans les descendances du génotype VIII au cours de la maturation

I. — Résultats de l'analyse de variance de la fréquence de formation des gousses

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Période de mesure	2,0601	1	2,0601	149,28**
Génotype parental ♂	0,3974	7	0,0568	2,19
Interaction période de mesure × génotype ♂	0,1724	7	0,0246	1,78
Individu/famille Res 1	0,6222	24	0,0259	
Res 2 (γ_F)	0,3321	24	0,0138	

Données transformées en Arcsin $\sqrt{\ }$ (transformation angulaire de Bliss).

II. — Résultats de l'analyse de variance du nombre de graines par gousse

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Période de mesure	16,2153	1	16,2153	61,91**
Génotype parental ♂	20,8808	7	2,9829	5,11**
Interaction période de mesure × génotype ♂	2,9176	7	0,4168	1,59
Individu/famille Res 1	14,0193	24	0,5841	
Res 2 (γ_F)	6,2853	24	0,2619	

III. — Résultats de l'analyse de variance du nombre de graines par fleur

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Période de mesure	39,9951	1	39,9951	358,70**
Génotype parental ♂	20,4896	7	2,9271	3,33*
Interaction période de mesure × génotype ♂	5,1836	7	0,7405	6,64**
Individu/famille Res 1	21,0598	24	0,8775	
Res 2 (γ_F)	2,6770	24	0,1115	

N. B. : * significatif à 5 p. 100
** significatif à 1 p. 100

toujours hautement significatif, l'effet du génotype parental mâle est significatif au seuil de 1 p. 100 pour le nombre de graines par gousse, et au seuil de 5 p. 100 pour le nombre de graines par fleur (tabl. 8). L'interaction entre le génotype parental mâle et la période de mesure n'est significative que pour le nombre de graines par fleur. L'évolution différentielle des familles selon la période de mesure n'apparaît donc pas aussi nettement que dans les descendances du génotype III. Il semble donc exister une interaction triple entre la période de mesure et les génotypes parentaux mâles et femelles.

b) *Nature héréditaire de l'aptitude au croisement frère × sœur.*

Quels que soient le stade de mesure et la variable considérée, les performances moyennes des descendances en croisement frère × sœur dépendent d'un effet spécifique du couple de génotypes parentaux (tabl. 9 et 10). On peut donc avancer

TABLEAU 9

Analyse génétique de l'aptitude femelle au croisement frère × sœur, mesurée trois jours après la fécondation, chez les luzernes diploïdes

I. — Résultats de l'analyse de variance de la fréquence de formation des gousses

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Interaction entre les génotypes parentaux...	0,7268	6	0,1211	5,74**
Résiduelle	0,8857	42	0,0211	

Données transformées en Arcsin $\sqrt{\ }$ (transformation angulaire de Bliss).

II. — Résultats de l'analyse de variance du nombre de graines par gousse

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Interaction entre les génotypes parentaux...	10,8314	6	1,8052	3,71**
Résiduelle	20,4386	42	0,4866	

III. — Résultats de l'analyse de variance du nombre de graines par fleur

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Interaction entre les génotypes parentaux...	16,6119	6	2,7686	4,57**
Résiduelle	25,4244	42	0,6053	

N. B. : ** significatif à 1 p. 100.

un déterminisme génétique pour l'aptitude au croisement frère × sœur. Comme pour l'effet du parent femelle en croisement, les interactions entre les génotypes parentaux pour l'aptitude à la production de graines en croisement frère × sœur sont assez importantes pour entraîner une modification des classements entre les génotypes parentaux mâles selon le génotype parental femelle.

TABLEAU IO

Analyse génétique de l'aptitude femelle au croisement frère × sœur, mesurée à la maturation chez les luzernes diploïdes

I. — Résultats de l'analyse de variance de la fréquence de formation des gousses

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Interaction entre les génotypes parentaux...	0,6137	6	0,1023	6,16**
Résiduelle	0,6968	42	0,0166	

Données transformées en Arcsin $\sqrt{\ }$ (transformation angulaire de Bliss).

II. — Résultats de l'analyse de variance du nombre de graines par gousse

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Interaction entre les génotypes parentaux...	6,1263	6	1,0210	4,83**
Résiduelle	8,8790	42	0,2114	

III. — Résultats de l'analyse de variance du nombre de graines par fleur

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Interaction entre les génotypes parentaux...	5,1504	6	0,8584	5,43**
Résiduelle	6,6285	42	0,0158	

N. B. : ** significatif à 1 p. 100.

L'interaction triple entre la période de mesure et les génotypes parentaux mâles et femelles peut alors être interprétée comme une interaction entre la performance moyenne d'une descendance (liée à l'effet spécifique du couple de parent) et la période de mesure.

c) *Importance de l'effet de l'apparentement sur la production de graines.*

Le rapport du nombre moyen de graines par gousse en croisement frère × sœur à la production en présence des témoins varie, selon les descendances, de 20 à 83 p. 100 trois jours après la fécondation et de 18 à 55 p. 100 à la maturation (tabl. 11). Pour le nombre de graines par fleur, la valeur moyenne se trouve abaissée et les différences entre famille accentuées puisque les valeurs extrêmes sont 10 et 81 p. 100 au premier stade et 4 et 43 p. 100 à la maturation. Il existe donc chez les luzernes diploïdes une diminution très importante de la production de graines en croisement frère × sœur.

TABLEAU II

Importance de l'effet de l'apparentement chez les diploïdes mesuré pour chaque famille par le rapport du nombre moyen de graines par gousse en présence des frères au nombre moyen de graines par gousse en présence des témoin

Parent ♂	Parent ♀ III		Parent ♀ VIII	
	Fécondation	Maturation	Fécondation	Maturation
II	0,196	0,178	0,432	0,388
IV	—	—	0,714	0,554
V	0,343	0,276	0,442	0,400
VI	0,440	0,342	0,525	0,426
VII	0,585	0,330	0,462	0,349
IX	0,577	0,348	0,652	0,517
X	0,759	0,407	0,830	0,514
XI	0,539	0,484	0,586	0,401

Par ailleurs, les taux d'avortements (estimés par le rapport de la différence entre les performances moyennes des familles trois jours après la fécondation et à la maturation à la performance moyenne trois jours après la fécondation) sont bien plus importants dans les croisements entre apparentés que dans les croisements avec les témoins (tabl. 12). Ceci fournit un premier argument en faveur de l'existence d'avortements d'ovules fécondés en liaison avec la consanguinité de l'embryon. L'évolution différentielle des performances des descendances en fonction du stade de mesure permet, de plus, de préciser que les taux d'avortements en croisement frère × sœur dépendent de la famille considérée.

III. — *Analyse de l'autofertilité*

Autofertilité des génotypes parentaux.

La fréquence de formation des gousses a été estimée pour chaque génotype parental à partir d'une centaine de fleurs à l'exception du génotype I (tabl. 13). Les valeurs se répartissent entre 0 et 0,17 selon les génotypes. L'autofertilité des diploïdes est donc extrêmement faible sans toutefois être nulle pour certains génotypes. Il est alors intéressant de rechercher l'origine de cette variation.

TABLEAU 12

Estimations des taux d'avortements chez les luzernes diploïdes dans la période de temps comprise entre trois jours après la fécondation et la maturation

I. — Estimations obtenues à partir des fréquences de formation des gousses

♂ \ ♀	Mode de pollinisation					
	Témoin		Frère × Sœur		Autofécondation	
	III	VIII	III	VIII	III	VIII
II	0,19	0,18	0,60	0,38	0,90	0,88
IV		0,11		0,33		0,77
V	0,31	0,05	0,84	0,29	0,91	0,54
VI	0,29	0,14	0,68	0,38	0,90	0,87
VII	0,34	0,06	0,61	0,41	0,93	0,89
IX	0,19	0,31	0,43	0,28	0,86	0,73
X	0,21	0,18	0,46	0,39	0,83	0,88
XI	0,19	0,13	0,41	0,26	0,78	0,51

II. — Estimations obtenues à partir des nombres moyens de graines par fleur

♂ \ ♀	Mode de pollinisation					
	Témoin		Frère × Sœur		Autofécondation	
	III	VIII	III	VIII	III	VIII
II	0,25	0,21	0,67	0,47	0,92	0,89
IV		0,12		0,55		0,86
V	0,37	0,06	0,89	0,35	0,85	0,67
VI	0,30	0,36	0,77	0,62	0,93	0,81
VII	0,10	0,18	0,77	0,59	0,95	0,91
IX	0,20	0,39	0,63	0,50	0,89	0,83
X	0,08	0,13	0,60	0,62	0,88	0,93
XI	0,54	0,16	0,64	0,55	0,84	0,59

TABLEAU 13

Autofertilité des luzernes diploïdes
Fréquences de formation des gousses et nombres moyens de graines par gousse des 11 génotypes parentaux

Génotype	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
Fleurs autofécondées	26	156	154	89	95	109	186	162	178	214	106
Gousses	0	11	1	0	4	7	0	13	10	18	18
Formation des gousses	0,00	0,070	0,006	0,000	0,021	0,064	0,000	0,080	0,056	0,084	0,170
Graines/gousse		1,000			1,25	1,22		1,17	1,000	1,83	1,75

Analyse de l'autofertilité de la descendance.

a) *Comparaison de l'autofertilité aux deux périodes de mesure au sein des descendances de chaque génotype femelle.*

Pour les deux ensembles de descendances, les effets directs sont significatifs ou hautement significatifs, aussi bien pour la fréquence de formation des gousses que pour le nombre de graines par fleur autofécondée (tabl. 14 et 15). Les interactions entre le génotype parental mâle et la période de mesure sont significatives pour le nombre de graines par fleur.

TABLEAU 14

Analyse de l'autofertilité des luzernes diploïdes.
Évolution de l'autofertilité dans les descendances du génotype III au cours de la maturation

I. — Résultats de l'analyse de variance de la fréquence de formation des gousses

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Période de mesure	2,0866	1	2,0866	91,92**
Génotype parental ♂	1,2328	6	0,2055	4,41**
Interaction période de mesure × génotype parental	0,2736	6	0,0456	2,01
Individu/famille Res 1	0,9331	20	0,0466	
Res 2 (γ_F)	0,4548	20	0,0227	

Données transformées en Arcsin $\sqrt{\ }$ (transformation angulaire de Bliss).

II. — Résultats de l'analyse de variance du nombre moyen de graines par fleur

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Période de mesure	2,1987	1	2,1987	44,87**
Génotype parental ♂	1,3724	6	0,2287	3,00*
Interaction période de mesure × génotype parental	0,7913	6	0,1319	2,69*
Individu/famille Res 1	1,5236	20	0,0762	
Res 2 (γ_F)	0,9797	20	0,0490	

N. B. : * significatif à 5 p. 100 ;
** significatif à 1 p. 100.

Il existe donc une diminution très importante de l'autofertilité entre les deux stades de mesure et l'évolution du nombre de graines par fleur varie selon les descendances. Bien que les taux d'avortements soient très élevés (voir tabl. 12), il semble important de noter qu'aucune descendance ne s'est révélée complètement autostérile.

TABLEAU 15

Analyse de l'autofertilité des luzernes diploïdes.
Évolution de l'autofertilité dans les descendances du génotype VIII au cours de la maturation

I. — Résultats de l'analyse de variance de la fréquence de formation des gousses

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Période de mesure	2,3353	1	2,3353	49,37**
Génotype parental ♂	1,1865	7	0,1695	2,95*
Interaction période de mesure × génotype parental	0,6534	7	0,0933	1,97
Individu/famille Res 1	1,4351	25	0,0574	
Res 2 ($\hat{\gamma}_F$)	1,1823	25	0,0473	

Données transformées en Arcsin $\sqrt{\ }$ (transformation angulaire de Bliss).

II. — Résultats de l'analyse de variance du nombre moyen de graines par fleur

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Période de mesure	5,8269	1	5,8269	47,57**
Génotype parental ♂	4,5789	7	0,6541	4,74**
Interaction période de mesure × génotype parental	3,9355	7	0,5622	4,59**
Individu/famille Res 1	3,4524	25	0,1381	
Res 2 (γ_F)	3,0630	25	0,1225	

N. B. : * significatif à 5 p. 100 ;
** significatif à 1 p. 100.

b) *Nature héréditaire de l'autofertilité.*

Les résultats des analyses de variance montrent que trois jours après la fécondation, l'autofertilité d'une descendance dépend d'un effet spécifique du couple de parents (tabl. 16). A la maturation, les effets des génotypes parentaux sont additifs (tabl. 17).

L'autofertilité est donc bien chez les diploïdes un caractère à déterminisme génétique. En excluant la mesure de l'autofertilité du génotype IV qui s'est avéré dans les conditions de culture totalement « femelle stérile », il est possible de calculer la corrélation de rang entre les autofertilités des 7 génotypes parentaux II, V, VI, VII, IX, X et XI, et les moyennes de leurs descendances à la maturation (DATTÉE, 1975). La valeur obtenue, égale à 0,82, diffère de 0 de manière hautement significative. Un tel résultat ne peut pas être expliqué par l'existence d'un système monogénique de type gamétophytique ou sporophytique mais concorde bien avec l'hypo-

thèse d'un déterminisme polygénique de l'autofertilité. La bonne concordance entre les classements des parents et des descendants est un argument en faveur d'une héritabilité élevée du caractère.

TABLEAU 16

Analyse génétique de l'autofertilité, mesurée trois jours après la fécondation, chez les luzernes diploïdes

I. — Résultats de l'analyse de variance de la fréquence de formation des gousses

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Interaction entre les génotypes parentaux ♂ et ♀	1,1259	6	0,1876	2,76*
Résiduelle	2,9212	43	0,0679	

Données transformées en Arcsin $\sqrt{\ }$ (transformation angulaire de Bliss).

II. — Résultats de l'analyse de variance du nombre moyen de graines par fleur

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Interaction entre les génotypes parentaux ♂ et ♀	3,9044	6	0,6507	3,70**
Résiduelle	7,5586	43	0,1758	

N. B. : * significatif à 5 p. 100 ;
** significatif à 1 p. 100.

TABLEAU 17

Analyse génétique de l'autofertilité, mesurée à la maturation, chez les luzernes diploïdes

I. — Résultats de l'analyse de variance de la fréquence de formation des gousses

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Interaction entre les génotypes parentaux ♂ et ♀	0,0596	6	0,0099	NS
Résiduelle	0,9706	45	0,0216	
Génotype parental ♂	0,3766	6	0,0628	3,11*
Génotype parental ♀	0,1582	1	0,1582	7,83**
Résiduelle/I = 0	1,0302	51	0,0202	

Données transformées en Arcsin $\sqrt{\ }$ (transformation angulaire de Bliss).

TABLEAU 17 (*suite*)

II. — Résultats de l'analyse de variance du nombre moyen de graines par fleur

Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Interaction entre les génotypes parentaux ♂ et ♀	0,0161	6	0,0027	NS
Résiduelle	0,2599	45	0,0058	
Génotype parental ♂	0,0973	6	0,0162	3*
Génotype parental ♀	0,0323	1	0,0323	5,98*
Résiduelle/I = 0	0,2760	51	0,0054	

N. B. : * significatif à 5 p. 100 ;
** significatif à 1 p. 100.

DISCUSSION

Relation auto-interfertilité

Les résultats expérimentaux des F_1 permettent d'étudier sur l'ensemble des individus les relations entre l'auto- et l'interfertilité. Les variables utilisées à chaque période de mesure sont la fréquence de formation des gousses et le nombre de graines par fleur pour l'autofertilité, la fréquence de formation des gousses et le nombre de graines par gousse pour les deux types de croisements, soient au total 12 variables.

Pour chaque variable, les meilleures variables « prédictrices » parmi les 11 restantes ont été recherchées. Dans tous les cas, les variables « prédictrices » retenues sont celles qui se trouvent introduites avec un coefficient de régression partielle significatif à 5 p. 100 ou à 1 p. 100. Il est ainsi possible de voir pour chaque mesure, l'importance de la relation entre les modes de pollinisations tout en tenant compte des relations à l'intérieur de chaque type de pollinisation. Les résultats sont schématisés sur la figure 2, les variables prédites étant réunies aux variables « « prédictrices » par une flèche.

Les relations intramodes de pollinisation sont bien entendu importantes et il apparaît nettement, trois jours après la fécondation, que les performances en croisement avec un témoin ne sont jamais prédites par les performances en autofécondation ni par les performances en croisement frère × sœur et réciproquement. En revanche, la fréquence de formation des gousses en croisement frère × sœur est prédite par la fréquence de formation des gousses en autofécondation.

Or ces deux variables, mesurées peu de temps après la fécondation, sont une fonction de la fréquence d'atteinte des ovules par les tubes polliniques. La liaison entre les performances en autofécondation et en croisement frère × sœur peut donc traduire l'aptitude à la croissance des gamétophytes mâles et à la fécondation en conditions d'apparentement entre le style et le pollen.

A la maturation, les relations entre les types de fécondations sont plus complexes mais il n'existe toujours pas de liaison directe entre les performances d'un individu en croisement non consanguin et les autofécondations (voir fig. 2). Toutefois en dehors des relations entre les performances d'un individu en conditions de consanguinité, de nouvelles liaisons se manifestent entre les résultats des croisements frère × sœur et ceux des croisements avec un témoin.

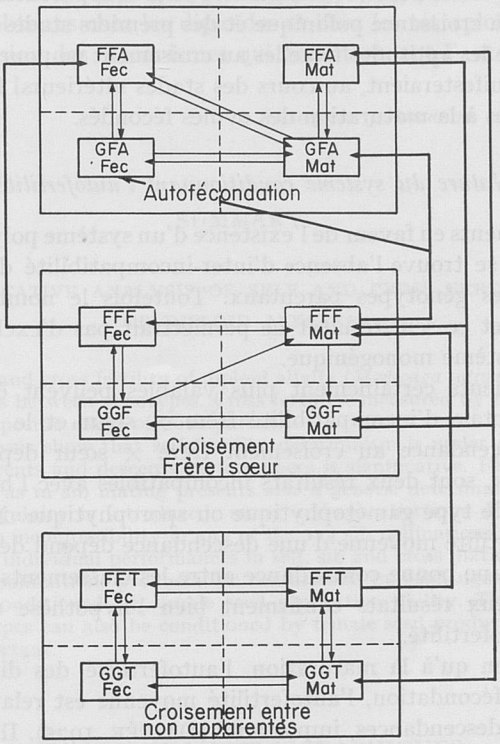


FIG. 2. — *Relations entre les autofécondations, les croisements frère × sœur et les croisements entre non apparentés chez les luzernes diploïdes*

Chaque variable prédictrice introduite avec un coefficient de regression partielle significatif est réunie à la variable prédite par une flèche, la pointe de la flèche indiquant la variable prédictrice : le nombre de liaisons entre les modes de pollinisation est bien plus important à la maturation que trois jours après la fécondation.

N. B. FFA : fréquence de formation des gousses en autofécondation ;
GFA : nombre moyen de graines par fleur en autofécondation ;
FFF : fréquence de formation des gousses en croisement frère × sœur ;
GGF : nombre moyen de graines par gousse en croisement frère × sœur ;
FFT : fréquence de formation des gousses en croisement avec un témoin ;
GGT : nombre moyen de graines par gousse en croisement avec un témoin.

Or, dans la mesure de l'effet femelle en croisement non consanguin, intervient probablement l'aptitude à la maturation des ovules fécondés. L'existence, à la maturation, d'une relation entre croisements consanguins et non consanguins d'une part, et l'absence de cette relation entre croisements non consanguins et autofécondations d'autre part signifieraient donc que cette aptitude s'exerce aussi sur les produits consanguins à condition que la consanguinité ne soit pas trop importante.

Pour rendre compte des différentes liaisons entre les variables étudiées et de leur évolution au cours de la maturation des gousses, nous sommes alors conduits à envisager deux effets distincts. Un effet d'apparentement entre le style et le pollen et de consanguinité qui se manifesterait principalement sur les produits d'autofécondations, l'aptitude femelle à la fécondation et à la maturation des ovules fécondés se manifestant au contraire sur les produits des croisements avec les témoins.

Dans le cas des croisements consanguins, l'effet d'apparentement serait prépondérant au cours de la croissance pollinique et des premiers stades du développement. Les différences entre les aptitudes femelles au croisement ne pourraient alors s'exprimer et seules se manifesteraient, au cours des stades ultérieurs, les différences entre les aptitudes femelles à la maturation des ovules fécondés.

Nature du système conditionnant l'autofertilité

Parmi les arguments en faveur de l'existence d'un système polygénique conditionnant l'autofertilité, se trouve l'absence d'inter-incompatibilité dans l'ensemble des croisements entre les génotypes parentaux. Toutefois le nombre de croisements effectués est limité et ce seul résultat ne permettrait pas d'exclure définitivement l'hypothèse d'un système monogénique.

D'autres arguments certainement plus valables peuvent être avancés. Tout d'abord l'absence totale d'incompatibilité frère × sœur et le fait que l'aptitude moyenne d'une descendance au croisement frère × sœur dépend du couple de génotypes parentaux, sont deux résultats incompatibles avec l'hypothèse d'un système monogénique de type gamétophytique ou sporophytique. Nous avons montré de plus que l'autofertilité moyenne d'une descendance dépend des génotypes parentaux et qu'il existe une bonne concordance entre les classements des parents et des descendants. Ces deux résultats confirment bien l'hypothèse d'un déterminisme polygénique de l'autofertilité.

Par ailleurs, bien qu'à la maturation, l'autofertilité des diploïdes soit faible, trois jours après la fécondation, l'autofertilité moyenne est relativement élevée et la variabilité entre descendances, importante (DATTÉE, 1975). Il n'existe donc pas chez les diploïdes d'obstacles stricts à la croissance de l'autopollen ni à l'autofécondation.

CONCLUSION

L'ensemble des résultats expérimentaux permettent de conclure que le nombre de graines par gousse en croisement chez les luzernes diploïdes dépend d'un effet du parent femelle, du parent mâle et d'un effet spécifique du couple. Les interactions entre les génotypes parentaux ne sont pas essentiellement localisées au niveau du génotype de l'embryon. Par ailleurs, l'effet du parent femelle en croisement est un caractère à déterminisme génétique, il ne dépend donc pas uniquement des conditions de culture. Les performances des croisements frère × sœur sont intermédiaires entre les performances en autofécondations et en croisements entre non apparentés. L'autofertilité des diploïdes est en moyenne très faible. Le déterminisme du caractère est polygénique.

Par ailleurs, dans tous les cas où une consanguinité de l'embryon est introduite, des avortements se manifestent au cours de la maturation de la graine.

Tous ces points : décomposition de la production de graines en croisement, localisation des interactions entre génotypes parentaux, effet de l'apparentement, viabilité des embryons consanguins, ont déjà fait l'objet de nombreuses études sur la Luzerne cultivée (Cooper et Brink, 1940 ; Sayers et Murphy, 1966 ; Busbice, 1968 ; Dessureaux et Gallais, 1972 ; Dattée, 1972, 1974 *a* et 1974 *b*) et la comparaison des résultats obtenus chez les diploïdes et chez les tétraploïdes permettra une meilleure compréhension des mécanismes qui conditionnent l'auto- et l'interfertilité chez *Medicago sativa* L.

Reçu pour publication en décembre 1975.

SUMMARY

QUANTITATIVE ANALYSIS OF SELF AND CROSS FERTILITY OF DIPLOID ALFALFA

An analysis of self and cross fertility of diploid alfalfa (*Medicago sativa* spp. *coerulea*) reveals self fertilities differences between genotypes. Cross fertility, measured by mean number of seeds per pod depends of a specific effect of both parents.

Descendances analysis show that self fertility determinism is under genetic control. Rank correlation between parents and descents performances is significative. Female seed production ability in cross as well as in sib mating presents also a genetic determinism.

Each time consanguinity is introduced, many embryo abortions during pod maturation are revealed, but no sib incompatibility in any of the 174 sib pollinations is observed.

Relations between individual performances in self, sib and cross mating may be interpreted with two effects : self pollinations products are conditioned by consanguinity while cross pollinations products are conditioned by female seed production ability. The products of crosses between related genotypes can also be conditioned by female seed production ability if consanguinity is not too important.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Busbice T. H., 1968. Effects of inbreeding on fertility in *Medicago sativa* L. *Crop Sci.*, **8**, 231-234.

Chalbi N., 1969. *Contribution à l'étude des phénomènes d'interactions biologiques entre génotypes en association et leur interprétation biométrique.* Thèse Fac. Sci., Paris.

Cooper D. C., Brink R. A., 1940. Partial self incompatibility and the collapse of fertile ovules as factors affecting seed formation in Alfalfa. *J. of Agric. Res.*, **60**, 453-472.

Dattée Y., 1972. Analyse quantitative de l'auto- et de l'interfertilité chez quelques familles de Luzerne. *Ann. Amélior. Plantes*, **22**, (1), 5-21.

Dattée Y., 1974 *a*. Influence des interactions entre les génotypes parentaux sur la production de graines chez la Luzerne (*Medicago sativa* L.). *Ann. Amélior. Plantes*, **24** (1), 37-43.

Dattée Y., 1974 *b*. Effet de l'apparentement sur la production de graines en croisement chez la Luzerne (*Medicago sativa* L.). *Ann. Amélior. Plantes*, **24** (1), 25-35.

Dattée Y., 1975. Facteurs génétiques liés à l'auto- et à l'interfertilité chez *Medicago sativa* L. Thèse Doct. Etat, Univ. P. et M. Curie.

Dessureaux L., Gallais A., 1971. Evolution of fertility in advanced generations of an Alfalfa single cross hybrid. *Can. J. Genet. Cytol.*, **13**, 834-841.

Gallais A., 1970. Modèle pour l'analyse des relations d'associations binaires. *Biométr. Praxim.*, **11**, 23, 51-80.

Sayers E. R., Murphy R. P., 1966. Seed set in Alfalfa as related to pollen tube growth, fertilization frequency and post fertilization ovule abortion. *Crop Sci.*, **6**, 365-368.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (3), 443-453.

L'ANTHRACNOSE DU HARICOT (*COLLETOTRICHUM LINDEMUTHIANUM*, SACC. ET MAGN.) : NOUVELLES SOURCES DE RÉSISTANCE ET NOUVELLES RACES PHYSIOLOGIQUES

G. FOUILLOUX

avec la collaboration technique de T. LE TAN

Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes,
Centre national de Recherches agronomiques, I. N. R. A.,
Route de Saint-Cyr,
78000 Versailles

RÉSUMÉ

Six nouvelles sources de résistance « totale » à l'Anthracnose (*Colletrotrichum lindemuthianum*) ont été trouvées dans des populations mexicaines et étudiées. Ces résistances sont monofactorielles dominantes mais différentes de celles données par l'allèle *Are* ou par l'allèle *Mexique 1*. Nous avons pu mettre en évidence deux nouveaux allèles de résistance, *Mexique 2* et *Mexique 3* situés à des loci différents.

Deux nouveaux isolats d'Anthracnose capables de surpasser l'allèle *Are* ont été étudiés : ils sont apparentés l'un au pathotype α, l'autre au pathotype δ et permettent de mettre en évidence une série allélique au locus *Mexique 1*. D'autre part les allèles *Mexique 2* et *Mexique 3* assurent la résistance à ces deux nouvelles races.

I. — INTRODUCTION

L'Anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum* SACC. et MAGN.) a été, en France, l'un des plus dangereux parasites du Haricot. Depuis 1960, l'introduction de la résistance génétique à ce champignon dans tous les types cultivés, a permis de réduire l'importance économique de cette maladie.

La variété « Imuna », obtenue par SCHREIBER et cumulant les résistances verticales aux pathotypes α, β et γ, constitua, en 1960, la première étape de ce travail. Néanmoins, les travaux de BANNEROT (1968) et de FOUILLOUX (1969) sur l'hérédité

de la résistance aux différents pathotypes, ont montré qu'il fallait accumuler au moins 6 gènes pour assurer une résistance à tous les pathotypes existants à l'exclusion du pathotype $\lambda(\alpha_5 N_2$ ou α mutant de HUBBELING).

Par ailleurs, l'introduction en France, en 1958, de l'allèle de résistance *Are*, issu de la lignée « Cornell 49242 » de l'Université de Cornell, a fourni un moyen simple de lutte génétique contre l'Anthracnose : cet allèle dominant, donnait la résistance à tous les pathotypes de *C. lindemuthianum* connus (résistance « totale »). Il a été abondamment utilisé par les sélectionneurs européens et nous comptions en 1975 plus de 75 variétés, inscrites au Catalogue officiel français, résistantes à l'Anthracnose du fait de cet allèle.

Néanmoins, le succès de cet allèle et le caractère éventuellement provisoire de cette résistance que nous supposions verticale, nous ont incité à rechercher de nouvelles sources de résistance ayant les mêmes propriétés. En 1970, un deuxième gène de résistance « totale » situé à un locus différent, a été trouvé dans deux lignées mexicaines, « Mexique 222 » et « Mexique 227 », et baptisé *Mexique 1* (BANNEROT *et al.*, 1971).

De nouvelles sources de résistance ont été isolées et étudiées par la suite et la découverte, en 1974, de deux isolats de *C. lindemuthianum* capables de surpasser l'allèle *Are*, a confirmé l'utilité de ce travail.

II. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les lignées étudiées sont issues de populations cultivées au Mexique et introduites, en France, par M. GARNIER (Établissements Séminor).

Un certain nombre de ces populations se sont montrées résistantes à tous les pathotypes de *C. lindemuthianum* connus à l'époque. Des individus de chacune de ces populations ont été croisés avec la variété « Tenderette » sensible à tous les pathotypes et les descendants F_2 et F_3 de ces croisements ont été sélectionnés à la fois pour la résistance à l'Anthracnose et la possibilité de fleurir en jours longs. Les lignées F_4 : TO « Acapulco »,TU « Mexico », TV « Cozumel », TX « Taxco I », TY « Taxco II » et TW « Uxmal » fixées pour la résistance ont été obtenues. Celles-ci ont été croisées avec la variété « Tenderette » pour étudier l'hérédité de leur résistance et avec « Silvert » (*Are*), avec « MY 132 » (*Mexique 1*) et entre elles afin d'obtenir le matériel nécessaire pour réaliser une série de tests d'allélisme. Le contrôle des F_1 par des marqueurs a permis d'éliminer les plantes non hybrides et les descendances de chacune des plantes F_1 d'un même croisement ont été traitées séparément pour éliminer les risques d'erreur.

Les souches de *C. lindemuthianum* des pathotypes δ et γ_2 sont maintenues à Versailles par clonages oligospores successifs sur le milieu de culture décrit par BANNEROT (1965).

L'isolat « Ebnet » a été collecté au champ, sur une variété de Haricot résistante, par le Dr SCHNOCK de la Station d'Ebnet (près de Fribourg, Allemagne) des Établissements Asgrow (HOFFMAN *et al.*, 1974).

L'isolat « α-Brazil » nous a été donné comme une souche du pathotype α par le Dr Eliane Augustin OLIVEIRA de l'I.P.E.A.S. (Instituto de Pesquisa e Expermentacão agropecuarias do Sul, Brésil) et nous avons découvert ses propriétés à Versailles.

Les deux isolats capables de surpasser l'allèle de résistance *Are* ont été traités par clonages oligospores successifs et les résultats des infections de variétés différentielles avec différents sous-clones des deux isolats ont montré que nous avions affaire à des souches pures.

Les différentes souches sont toujours cultivées séparément et ne sont mélangées, s'il y a lieu, que juste avant l'infection.

La technique d'infection est la même que celle décrite par BANNEROT (1965). Une gamme d'hôtes différentiels composée des variétés « Aiguille Vert », « BO 22 », « Dark Red Kidney », « Imuna », « Kaboon », « Kievit Koekoek », « La Victoire », « Perry Marrow », « Prélude », « Silvert » et « Widusa » a permis de contrôler le pouvoir pathogène des souches ou des mélanges de souches utilisés.

La notation de la réponse aux infections n'a pas posé de problème, les plantes sensibles étant généralement détruites tandis que les plantes saines ne présentent aucun symptôme. Malgré tout, dans certains croisements, certaines plantes montrent des nécroses ponctiformes. Ces plantes sont considérées comme résistantes et notées « *r* » dans la mesure où ces symptômes n'évoluent pas et où le champignon ne sporule pas. Il est à noter que la présence de ces petits points est beaucoup plus fréquente lorsque les plantes sont infectées avec « Ebnet » ou « α-Brazil ».

III. — RÉSULTATS ET INTERPRÉTATION

1. — *Recherches de nouvelles sources de résistance totale*

Les lignées et les descendants F_2 des croisements ont été testés avec un mélange de souches de pathotypes δ et γ_2. Dans ce cas, l'ensemble des variétés différentielles est attaqué, sauf « Silvert » qui possède l'allèle *Are*.

L'infection des F_2 des croisements de ces lignées fixées pour la résistance avec « Tenderette », a donné les résultats indiqués dans le tableau 1.

TABLEAU I

Résultats de l'infection par un mélange des pathotypes δ et γ_2 des F_2 issues des croisements du type : Résistance « totale » × Sensible à tous les pathotypes

Croisements	Disjonction	Disjonction théorique 3-1	χ^2_c 3-1 (1)	Probabilité du χ^2_c
« Silvert » × « Tenderette »	204R-64S	201R-67S	0,0011	$0,90 < P$
MY 13 × « Tenderette »	146R-46S	144R-48S	0,0624	$0,90 < P$
TO × « Tenderette »	105R-39S	108R-36S	0,312	$0,50 < P < 0,75$
TU × « Tenderette »	165R-49S	160,5R-53,5S	0,3984	$0,50 < P < 0,75$
TX × « Tenderette »	70R-20S	67,5R-22,5S	0,2368	$0,50 < P < 0,75$
TY × « Tenderette »	66R-14S	60R-20S	2,0184	$0,10 < P < 0,25$

(1) χ^2_c : Correction de Yates du χ^2 pour la continuité dans le cas d'un seul degré de liberté.

On peut conclure de ces résultats que la résistance des lignées TO, TU, TX et TY envers l'inoculum composé par les pathotypes δ et γ_2 est monogénique dominante.

L'infection des F_2 issues des croisements de ces lignées résistantes avec des lignées possédant une résistance « totale » connue, « Silvert » et « MY 132 », a donné les résultats figurant dans le tableau 2.

Les disjonctions 15R-1S obtenues suggèrent que l'allèle de résistance intervenant dans ces lignées est situé à un locus différent et indépendant du locus *Are* et du locus *Mexique 1*.

Les résultats de l'infection des F_2 de ces lignées croisées deux à deux sont donnés dans le tableau 3.

TABLEAU 2

Résultats de l'infection par un mélange des pathotypes δ et γ_2 des F_2 issues des croisements du type : Nouvelles sources de résistance « totale » × Résistance totale connue (Are et Mexique 1)

Croisements	Disjonction	Disjonction théorique 15-1	χ^2_c 15-1	Probabilité du χ^2_c
« Silvert » × MY 132	85R-9S	88,12R-5,88S	1,29	$0,25 < P < 0,50$
TO × « Silvert »	38R-4S	39,37R-2,63S	—	—
TU × « Silvert »	169R-15S	172,50R-11,50S	0,83	$0,25 < P < 0,50$
TV × « Silvert »	71R-8S	74,06R-4,94S	1,42	$0,10 < P < 0,25$
TX × « Silvert »	114R-11S	117,19R-7,81S	0,99	$0,25 < P < 0,50$
TY × « Silvert »	286R-22S	288,75R-19,25S	0,28	$0,50 < P < 0,75$
TO × MY 132	257R-21S	260,69R-17,37S	0,60	$0,25 < P < 0,50$
TU × MY 132	185R-17S	189,38R-12,62S	1,27	$0,25 < P < 0,50$
TX × MY 132	142R-7S	139,69R-9,31S	0,38	$0,50 < P < 0,75$
TY × MY 132	422R-35S	428,44R-28,56S	1,32	$P = 0,25$
TW × MY 132	25R-1S	24,31R-1,62S	—	—

TABLEAU 3

Résultats de l'infection par un mélange des pathotypes δ et γ_2 des F_2 issues des croisements entre les nouvelles sources de résistance « totale »

Croisements	Disjonction	Disjonction théorique 15-1	χ^2_c 15-1	Probabilité du χ^2_c
TO × TU	78R-5S	77,81R-5,19S	0,0191	$0,90 < P$
TO × TY	186R-14S	187,50R-12,50S	0,0847	$0,50 < P < 0,75$
TV × TU	52R			
TX × TU	279R			
TY × TU	188R			
TW × TU	107R			
TX × TV	127R			
TW × TV	100R			
TY × TX	158R			

On peut résumer l'ensemble de ces résultats dans le tableau diallélique ci-contre :

En conclusion, on peut dire que les lignées étudiées possèdent un allèle de résistance situé à un locus différent et indépendant de *Are* et de *Mexique 1*. D'autre part, ces résultats indiquent que l'allèle de résistance de la lignée TO n'est pas situé au même locus que celui des lignées TU et TY. Par déduction on peut considérer que la résistance des lignées TV, TX et TW est sous le même contrôle génétique que celle des lignées TU et TY, dans la mesure où nous ne connaissons pas de races discriminantes pour distinguer des allèles différents au même locus.

Nous proposons donc d'appeler *Mexique 2* l'allèle de résistance de TO et *Mexique 3* l'allèle de résistance de TU, TX, TY, TV et TW.

TABLEAU 4

Récapitulation des disjonctions observées sur les différentes F_2 après infection par les pathotypes δ et γ_2

	Tend.	Silv.	MY 132	TO	TU	TX	TY	TV	TW
« Tenderette »	S								
« Silvert » (*Are*)	3-1	R							
MY 132 (*Mex. 1*)	3-1	15-1	R						
TO	3-1	15-1	15-1	R					
TU	3-1	15-1	15-1	15-1	R				
TX	3-1	15-1	15-1	—	R	R			
TY	3-1	15-1	15-1	15-1	R	R	R		
TV	—	15-1	—	—	R	—	—	R	
TW	—	—	15-1	—	R	—	—	R	R

2. — *Étude des nouvelles souches « Ebnet » et « α-Brazil » de* C. lindemuthianum

Les deux souches capables d'attaquer les plantes possèdant l'allèle *Are* ont été étudiées pour définir leur appartenance raciale.

Si la sensibilité des plantes possèdant l'allèle *Are* est assez homogène vis-à-vis de la souche « Ebnet », il n'en est pas de même pour la souche « α-Brazil ». En particulier la variété fixée « Doby » ne présente que de faibles symptômes et un grand nombre de plantes ne sont pas attaquées. « α-Brazil » semble avoir une sporulation médiocre.

Afin de préciser le spectre d'attaque de ces nouvelles souches nous les avons testées seules et en mélange avec les souches de pathotypes δ et γ_2 sur une série de variétés différentielles (tabl. 5).

Les résultats montrent que les souches « α-Brazil » et « Ebnet » sont apparentées respectivement au pathotype α et au pathotype δ, mais s'en distinguent par la propriété de surpasser la résistance conférée par l'allèle *Are*.

On peut donc compléter le schéma d'évolution des pathotypes de *C. lindemuthianum* élaboré par BANNEROT et RICHTER (1968). Le schéma est basé sur le principe d'une évolution du parasite par accumulation de nouveaux allèles de virulence. L'étude des réactions des différents pathotypes sur une série de pathodèmes différentiels et les études génétiques de la résistance à ces différents pathotypes

ont montré que toutes les lignées résistantes à δ sont résistantes à α, et que toutes les lignées résistantes à γ sont résistantes à β.

Deux phyla évolutifs ont pu être ainsi mis en évidence, ces deux phyla convergeant vers le pathotype λ qui possède l'ensemble des allèles de virulence connus jusqu'en 1973, ceux-ci ne permettant pas de surpasser l'allèle de résistance *Are*.

TABLEAU 5

Comparaison sur une série d'hôtes différentiels de la virulence des pathotypes γ_2, δ et α et des isolats de « Ebnet » et de « α-Brazil »

Hôtes différentiels	Pathotypes ou isolats						
	γ_2	δ	« Ebnet »	« Ebnet » + δ + γ_2	α	« α-Brazil »	« α-Brazil » + δ + γ_2
« Aiguille vert »	S	S	S	S	S	S	S
« BO 22 »	S	*r*	*r*	S	R	R	S
« Dark Red Kidney »	S	S	*r*	S	R	R	S
« Imuna »	R	S	S	S	R	R	S
« Kaboon »	S	R	*r*	S	R	R	S
« Kievit Koekoek »	S	R	*r*	S	R	R	S
« La Victoire »	S	S	S	S	S	S	S
« Perry Marrow »	S	S	S	S	R	R	S
« Prélude »	R	S	S	S	S	S	S
« Widusa »	R	S	S	S	S	S	S
« Silvert » (*Are*)	R	R	S	S	R	S	S
« Maxidor » (*Are*)	R	R	S	—	R	S	—
« Doby » (*Are*)	R	R	S	—	R	27R-10S	—
MY 121 (*Mex. 1* de « M. 222 »)	R	R	R	R	R	S	S
MZ 123 (*Mex. 1* de « M. 227 »)	R	R	S	S	R	S	S

R : Résistants.
r : Résistants présentant des nécroses ponctiformes.
S : Sensibles.

On pensait qu'une évolution ultérieure (capacité de surpasser l'allèle *Are*) se ferait à partir du pathotype λ et cette hypothèse était rassurante dans la mesure où le pathotype λ n'était que peu agressif. Malheureusement, cela ne semble pas être le cas : l'apparentement respectif des souches « α-Brazil » et « Ebnet » aux pathotypes α et δ semblent montrer que ces nouveaux pathotypes sont issus respectivement des pathotypes α et δ (fig. 1 *a*).

Une autre hypothèse peut être avancée : le pathotype α aurait évolué vers le pathotype « α-Brazil » qui à son tour aurait donné le pathotype « Ebnet ». Cette hypothèse est moins vraisemblable étant donné les origines géographiques différentes des deux isolats et leur réaction particulière sur les lignées MY et MZ (fig. 1 *b*).

Les réactions de MY et de MZ à ces deux souches sont étonnantes. Nous considérions que ces deux sources de résistance possédaient le même allèle *Mexique 1* dans la mesure où les tests d'allélisme effectués avec un mélange des pathotypes δ et γ_2 étaient positifs. L'infection de plusieurs lignées sœurs des familles MY et MZ

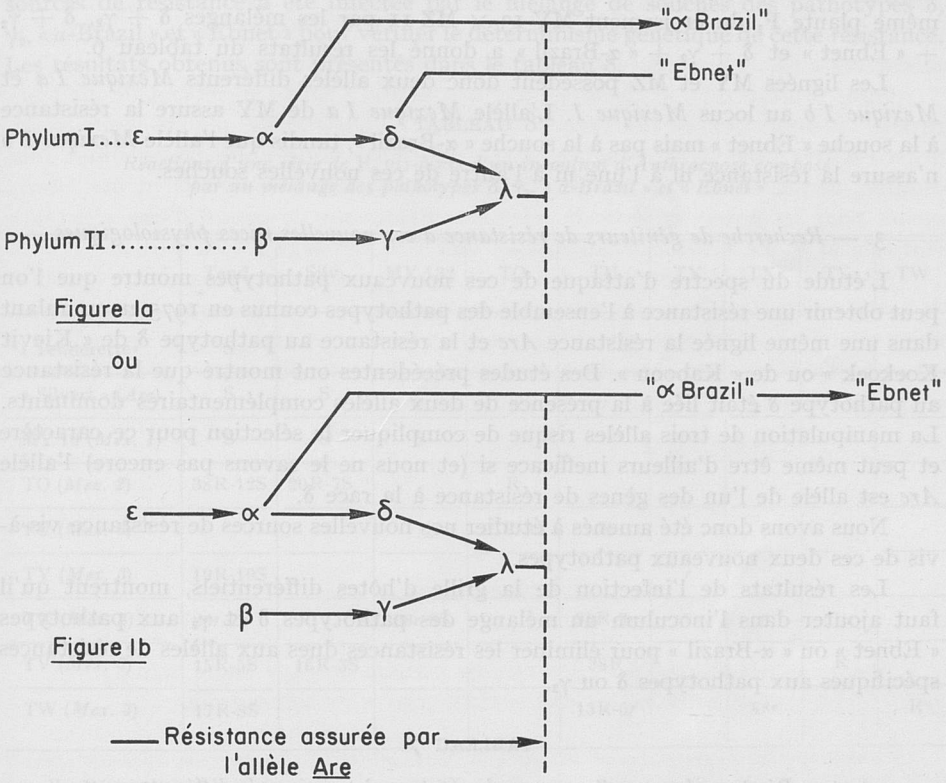


FIG. 1. — *Hypothèses sur l'origine des pathotypes « α Brazil » et « Ebnet »* (ε α, δ, β, γ *et* λ *étaient les 6 pathotypes de* Colletotrichum lindemuthianum *connus jusqu'en 1973*).

TABLEAU 6

Réactions de la F_2 « *MY 13 × MZ 11* » *vis-à-vis de trois inocula différents*

Inocula	Disjonction observée dans la F_2 MY 13 × MZ 11
$\delta + \gamma_2$	100R
$\delta + \gamma_2$ + « Ebnet »	80R-18S
$\delta + \gamma_2$ + « α-Brazil »	100S

R : Résistants.
S : Sensibles.

confirme ces résultats. D'autre part, l'infection d'un lot de plantules F_2 issu de la même plante F_1 du croisement MY 13 × MZ 11 par les mélanges $\delta + \gamma_2$, $\delta + \gamma_2$ + « Ebnet » et $\delta + \gamma_2$ + « α-Brazil » a donné les résultats du tableau 6.

Les lignées MY et MZ possèdent donc deux allèles différents *Mexique 1 a* et *Mexique 1 b* au locus *Mexique 1*. L'allèle *Mexique 1 a* de MY assure la résistance à la souche « Ebnet » mais pas à la souche « α-Brazil », tandis que l'allèle *Mexique 1 b* n'assure la résistance ni à l'une ni à l'autre de ces nouvelles souches.

3. — *Recherche de géniteurs de résistance à ces nouvelles races physiologiques*

L'étude du spectre d'attaque de ces nouveaux pathotypes montre que l'on peut obtenir une résistance à l'ensemble des pathotypes connus en 1975 en cumulant dans une même lignée la résistance *Are* et la résistance au pathotype δ de « Kievit Koekoek » ou de « Kaboon ». Des études précédentes ont montré que la résistance au pathotype δ était liée à la présence de deux allèles complémentaires dominants. La manipulation de trois allèles risque de compliquer la sélection pour ce caractère et peut même être d'ailleurs inefficace si (et nous ne le savons pas encore) l'allèle *Are* est allèle de l'un des gènes de résistance à la race δ.

Nous avons donc été amenés à étudier nos nouvelles sources de résistance vis-à-vis de ces deux nouveaux pathotypes.

Les résultats de l'infection de la grille d'hôtes différentiels, montrent qu'il faut ajouter dans l'inoculum un mélange des pathotypes δ et γ_2 aux pathotypes « Ebnet » ou « α-Brazil » pour éliminer les résistances dues aux allèles de résistances spécifiques aux pathotypes δ ou γ_2.

TABLEAU 7

Réactions des nouvelles sources de résistance à trois inocula différents

Lignées	$\delta + \gamma_2$	$\delta + \gamma_2$ + « Ebnet »	$\delta + \gamma_2$ + « Ebnet » + « α-Brazil »
« Tenderette »	S	S	S
« Kievit Koekoek »	S	S	S
« Silvert » (*Are*)	R	S	S
« Maxidor » (*Are*)	R	S	S
MY 12 11	R	R	S
MZ 11 32	R	S	S
TO 221	R	R	R
TO 4215	R	R	R
TU 1121	R	R	R
TV 1111	R	R	R
TY 121	R	R	*r*
TX 111	R	R	*r*
TV 111	R	R	*r*

R : Résistants.
r : Résistants présentant des nécroses ponctiformes.
S : Sensibles.

Une partie des F_2 issues des croisements utilisés dans la recherche de nouvelles sources de résistance a été infectée par le mélange de souches des pathotypes δ, γ_2, « α-Brazil » et « Ebnet » pour vérifier le déterminisme génétique de cette résistance. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 8.

TABLEAU 8

Réactions d'une série de F_2 vis-à-vis d'un inoculum d'Anthracnose composé par un mélange des pathotypes δ, γ_2, « α-Brazil » et « Ebnet »

	Tend.	Silv.	MY 132	TO	TU	TY	TX	TV	TW
« Tenderette »	S								
« Silvert » (*Are*)	S	S							
MY 13 (*Mex. 1*)	S	S	S						
TO (*Mex. 2*)	38R-12S	20R-7S		R					
TU (*Mex. 3*)				27R-3S	R				
TY (*Mex. 3*)	19R-10S					*r*			
TX (*Mex. 3*)	20*r*-7S		28*r*-8S		33R-9*r*		*r*		
TV (*Mex. 3*)	15R-5S	16R-3S			38R			R	
TW (*Mex. 3*)	17R-8S				13R-6*r*		48*r*		R

R : Résistants.
r : Résistants présentant des nécroses ponctiformes.
S : Sensibles.

Ces résultats montrent que la résistance des lignées mexicaines envers les nouveaux pathotypes « Ebnet » et « α-Brazil » est monogénique dominante et qu'il s'agit des gènes déjà mis en évidence dans la première partie du travail.

IV. — CONCLUSION

Le problème posé par la possibilité d'apparition de ces nouvelles races en France peut être facilement résolu dans la mesure où nous possédons deux allèles de résistance à l'ensemble de tous les pathotypes connus en 1975. Un programme de rétrocroisements peut permettre d'introduire rapidement les allèles *Mexique 2* ou *Mexique 3* dans tous les types de Haricot tout en conservant les progrès déjà acquis par ailleurs : l'obtention de variétés cultivables résistantes est possible avant l'apparition en France de ces nouvelles races.

Néanmoins, il apparaît souhaitable de n'utiliser dans les programmes de sélection

qu'un seul des deux gènes, *Mexique 2* par exemple, et de garder l'autre en réserve pour parer éventuellement à une nouvelle évolution du parasite. Cela n'exclut pas, d'ailleurs, l'amélioration en serre des lignées possédant *Mexique 3* afin de rendre cet allèle, le cas échéant, plus rapidement utilisable.

Nous pensons que, le Haricot étant une espèce à faible coefficient de multiplication, l'introduction de résistances verticales monogéniques, malgré leur « fragilité » est très utile. L'introduction d'une résistance horizontale polygénique, plus durable, demande de très grands effectifs. Ceci se ferait au détriment des efforts menés pour les autres critères de sélection. Néanmoins le cumul d'une résistance verticale et d'une résistance horizontale doit être envisagé à long terme.

Mais l'emploi d'une résistance verticale nécessite un « entretien » constant de cette résistance : la recherche de nouvelles sources de résistance avant l'apparition d'une nouvelle race physiologique peut permettre une parade immédiate à cet accident. Nous continuons donc la recherche de nouvelles sources génétiquement simples de résistance « totale » à l'Anthracnose.

Reçu pour publication en mars 1975.

SUMMARY

BEAN ANTHRACNOSE (*COLLETOTRICHUM LINDEMUTHIANUM* SACC. MAGN.) : NEW SOURCES OF RESISTANCE AND NEW PATHOTYPES

Six new sources of resistance to all races of Anthracnose (*Colletrotrichum lindemuthianum*) were found in Mexican bean populations and were studied. These resistances are determined by a single dominant gene different from both *Are* and *Mexique 1*. In this collection, there are, in fact, two genes called *Mexique 2* and *Mexique 3*.

Two new strains of *C. lindemuthianum* can break down the resistance of the *Are* gene. These strains, « α-Brazil » and « Ebnet », were connected respectively with α race and δ race. An allelic serie is pointed at the *Mexique 1* locus. Moreover, the *Mexique 2* and *Mexique 3* genes separately give resistance to these new strains.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bannerot H., 1965. Résultats de l'infection d'une collection de Haricots par six races physiologiques d'Anthracnose. *Ann. Amélior. Plantes*, **15** (2), 201-222.

Bannerot H., Richter R., 1968. Étude de la descendance de deux croisements de Haricot pour leur résistance à différentes races physiologiques d'Anthracnose. *Ann. Amélior. Plantes*, **18** (2), 171-179.

Bannerot H., Derieux M., Fouilloux G., 1971. Mise en évidence d'un second gène de résistance totale à l'Anthracnose chez le Haricot. *Ann. Amélior. Plantes*, **21** (1), 83-85.

Charrier A., Bannerot H., 1970. Contribution à l'étude des races physiologiques de l'Anthracnose du Haricot. *Ann. Phytopathol.*, **2** (3), 489-506.

Fouilloux G., 1969. *L'Anthracnose du Haricot*. D.E.A. d'Amélioration des Plantes. Faculté des Sciences d'Orsay.

Hoffman G. M., Schnock M., Krüger J., 1974. Zum Auftreten einer neuen physiologischen Rasse von *Colletotrichum lindemuthianum* an *Phaseolus vulgaris*. *Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutsz*, **81** (8), 490-493.

HUBBELING N., 1957. New aspects of breeding for disease resistance in Beans (*Phaseolus vulgaris*). *Euphytica*, **6**, 111-141.

MASTENBROEK C., 1960. A breeding programme for resistance to Anthracnose in dry shell haricot beans based on a new gene. *Euphytica*, **9**, 177-184.

SCHNOCK M. G., HOFFMAN G. M., KRUGER J., 1975. A new physiological strain of *Colletotrichum lindemuthianum* infecting *Phaseolus vulgaris* L. *Hortscience*, **10** (2), p. 140.

SCHREIBER N., 1932. Resistenzzüchtung bei *Phaseolus vulgaris*. *Phytopathol. Z.*, **4**, 415-454.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (3), 455-464.

VARIATIONS PHÉNOTYPIQUES CHEZ UNE SOUCHE COMMERCIALE D'*AGARICUS BISPORUS* L.

C. BRIAN, Micheline IMBERNON et J. GUINBERTEAU
avec la collaboration technique de Lucette PIROBE

Station de Recherches sur les Champignons,
Centre de Recherches de Bordeaux, I. N. R. A.,
Pont de la Maye, 33140 Villenave d'Ornon

RÉSUMÉ

L'objet de cette étude était de mettre en évidence l'hétérogénéité phénotypique et génotypique du mycélium d'une souche commerciale de champignon de couche.

Le mycélium d'*Agaricus bisporus* est constitué d'articles comportant un nombre variable de noyaux. Il en résulte que chaque article présente des aptitudes métaboliques différentes et donc qu'il est plus ou moins bien adapté au substrat.

Le mycélium a été fragmenté et étalé sur milieu gélosé. Les colonies qui en sont issues ont été isolées et observées sur un milieu complet et un milieu minimum.

Six types de colonies présentant un aspect morphologique différent de la souche d'origine ont été obtenus. Pour certains, la croissance a été différente sur le milieu complet et le milieu minimum, mais aucun auxotrophe n'a été décelé.

Les variations constatées du phénotype d'une souche qui effectue sa croissance sur un milieu donné sont vraisemblablement expliquées par une hétérogénéité génotypique du mycélium ; elles permettent de comprendre les résultats très variables enregistrés en culture.

I. — INTRODUCTION

Le champignon de couche, *Agaricus bisporus*, représente l'une des productions légumières les plus importantes de France, à la fois par le chiffre d'affaire réalisé et par le volume des exportations. Cependant, comparativement aux autres espèces cultivées, il n'a encore fait l'objet que d'un travail de recherche limité, dont l'essentiel a porté sur la physiologie de la fructification, la biochimie des substrats, quelques problèmes de pathologie, et surtout la préparation de sa source de matière nutritive, le compost.

Sa semence, ou « blanc », est constituée par une masse mycélienne multipliée végétativement sur des grains de céréales (millet en général), ou plus rarement sur du compost préalablement stérilisé. Il est très difficile de connaître l'origine précise des « souches » commercialisées par les différentes firmes de production de blanc. Le terme de souche commerciale doit donc être considéré comme un vocable très général, désignant la semence fournie aux champignonnistes, provenant le plus souvent d'une multiplication végétative d'un fragment de mycélium, et plus rarement de la germination d'un petit nombre de spores ou même d'une seule.

Le mécanisme de reproduction très particulier du champignon de couche, (C. A. Raper, J. R. Raper, R. E. Miller, 1972) se traduit, pour chaque souche, par une redistribution des gènes entre les quatre noyaux inclus deux par deux dans chaque basidiospore (fig. 1). Si ce processus n'interdit pas une ségrégation des caractères dans les produits de la méiose, il limite par contre fortement l'apparition d'associations génétiques qui n'existaient pas dans le génotype parental, puisqu'il empêche tout croisement. Des associations nouvelles ne peuvent ainsi être produites qu'à l'occasion d'anastomoses entre filaments mycéliens dicaryotiques, anastomoses dont la fréquence, bien que difficile à apprécier en l'absence d'un nombre suffisant de gènes marqueurs, est certainement peu élevée.

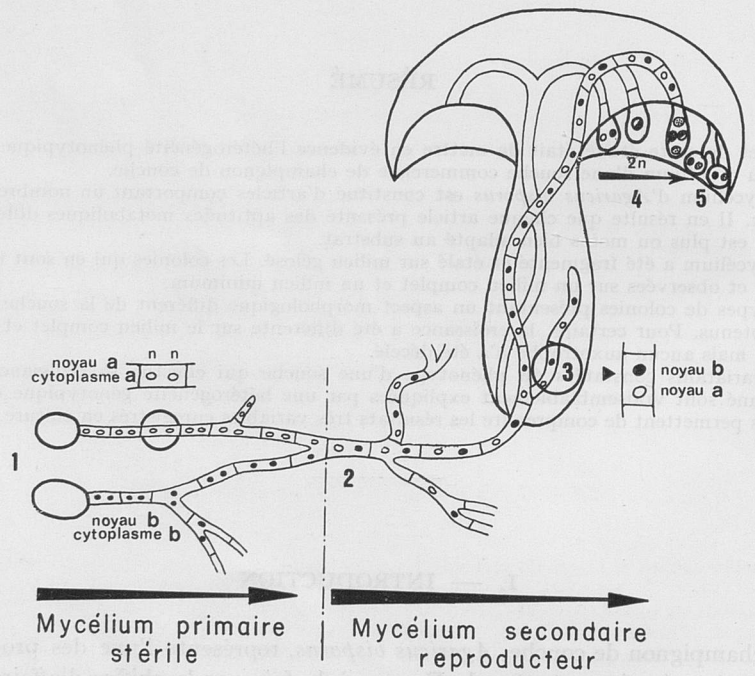


Fig. 1. — *Représentation schématique du développement d'*Agaricus bisporus
(d'après Monique Sibi)

1) Spore
2) Plasmogamie
3) Fusion des cytoplasmes
4) Fusion des noyaux
5) Baside et ses spores

On pourrait donc s'attendre à ce que la « semence » d'*Agaricus bisporus* soit particulièrement homogène d'un point de vue génétique, et à ce que les souches commerciales aient donc un comportement très bien défini. En fait, les « blancs » se caractérisent essentiellement par une grande variabilité en culture. L'intervalle entre les périodes de fructification ou « volées », la forme et le calibre des champignons obtenus, la sensibilité aux conditions de milieu, aux parasites, le rendement, etc., sont soumis à des fluctuations considérables lorsqu'une même variété est observée dans des exploitations différentes.

Une partie seulement de ces variations peut être imputée aux interactions entre le champignon et le milieu hétérogène que constitue le compost. L'environnement général de la culture ne diffère également pas suffisamment d'une cave à l'autre pour expliquer de telles différences. Comme il est impossible de caractériser morphologiquement les « blancs », on est naturellement conduit à étudier l'homogénéité génétique des souches qui constituent les variétés commercialisées.

II. — MATÉRIEL ET MÉTHODE

L'une des souches commerciales les plus utilisées par les champignonnistes a été retenue comme matériel de départ. A partir d'un inoculum de « blanc » commercial, du mycélium a été multiplié en boîte de Petri et en tube à essai sur le milieu complet utilisé par Raper (Raper C. A., J. R. Raper, R. E. Miller, 1972) :

Dextrose	20 g
Peptones	2 g
Extrait de levure	2 g
Sulfate de magnésium	0,5 g
Phosphate mono-potassique	0,46 g
Phosphate di-potassique	1,00 g
Agar	20,00 g
Eau	1 000 g

Ce mycélium a ensuite été prélevé stérilement et broyé en milieu aqueux dans un appareil Waring pendant une minute. Par observation microscopique, on a vérifié que la fragmentation des hyphes était suffisante, les filaments ayant de trois à cinq articles, exceptionnellement une dizaine. La concentration en éléments a également été déterminée par comptage à la cellule de Malassez et le titre de la suspension ajusté à cent mille éléments par millilitre environ.

Un certain nombre de boîtes de milieu complet ont ensuite reçu un dixième de millilitre de cette suspension en vue d'obtenir la croissance hyphale d'une cinquantaine de fragments. En effet le broyage détériore de nombreux articles et seule une petite proportion (0,5 p. 100) est en état de se multiplier.

Après trois à cinq jours d'incubation à 25°C les premières hyphes sont visibles sous loupe stéréoscopique et leur isolement est réalisé en conditions stériles avant que des mélanges entre filaments d'origine différente ne puissent se produire.

Chacune des nouvelles souches ainsi obtenues est directement mise en tube sur milieu complet à 25°C pour obtenir une croissance aussi rapide que possible.

Lorsque l'envahissement des tubes est suffisant, soit quinze à vingt jours plus tard, ces souches-mères fournissent l'inoculum ensemencé sur deux milieux différents : le milieu complet de Raper, cité précédemment, et son milieu minimum où les peptones et l'extrait de levure sont remplacés par 2 g d'asparagine et 120 µg de chlorhydrate de thiamine. Ce passage des souches sur un milieu minimum est destiné à repérer éventuellement des auxotrophes. Ces différentes étapes sont représentées à la figure 2.

Le comportement des souches (aspect des colonies, allure de la croissance, coloration du milieu de culture) est ensuite observé dans les tubes de culture, et surtout dans les boîtes. Les résultats les plus intéressants sont obtenus trente à quarante jours après l'inoculation.

Le comportement de quelques souches représentant les différents types obtenus a été à nouveau observé après repiquage à partir des tubes d'origine. D'autre part, quelques souches qui présentaient un aspect particulièrement homogène sur les deux milieux utilisés ont été soumises encore à une fragmentation, puis les colonies qui se sont développées sur boîte de milieu complet ont été repiquées sur milieu de RAPER minimum et complet.

Mycélium d'une souche commerciale d'Agaric

Croissance sur le milieu complet

Prélèvement du mycélium en milieu aqueux

Fragmentation de la suspension mycélienne pendant une minute dans un Waring Blendor

Inoculation de la suspension d'articles (0,1 ml/Boîte) et étalement sur le milieu complet

Incubation à 25°C

Isolement des hyphes en croissance issues d'articles individualisés sur le milieu complet

Constitution d'une collection de souches chacune correspondant à un fragment vivant

Passage de chacune de ces souches sur les deux milieux complet et minimum.

FIG. 2. — *Déroulement schématique du processus expérimental*

III. — RÉSULTATS

En boîte comme en tube, le mycélium de la souche commerciale d'origine (donc non fragmentée) présente le même aspect : développement relativement rapide, à la surface du milieu, en formant quelques « cordons mycéliens », léger assombrissement du milieu à l'emplacement de la colonie sans changement de coloration. Ce comportement est observé aussi bien sur milieu complet que sur minimum ; dans ce dernier cas, la croissance est simplement un peu plus lente.

1. — *Observation des isolements en tube*

Les colonies obtenues sur milieu de RAPER complet ont été réparties en sept catégories en fonction de leur aspect :

Une première catégorie (43 p. 100 des cultures) rassemble toutes les colonies dont l'aspect est analogue à celui de la culture-mère (variété commerciale) avant broyage, ainsi qu'un certain nombre de « cas litigieux » difficilement classables ailleurs en raison de l'hétérogénéité de leurs caractéristiques.

Parmi les colonies présentant un aspect différent de la culture-mère (57 p. 100 des souches étudiées) six catégories ont été établies en fonction de l'aspect du mycélium (fig. 3):

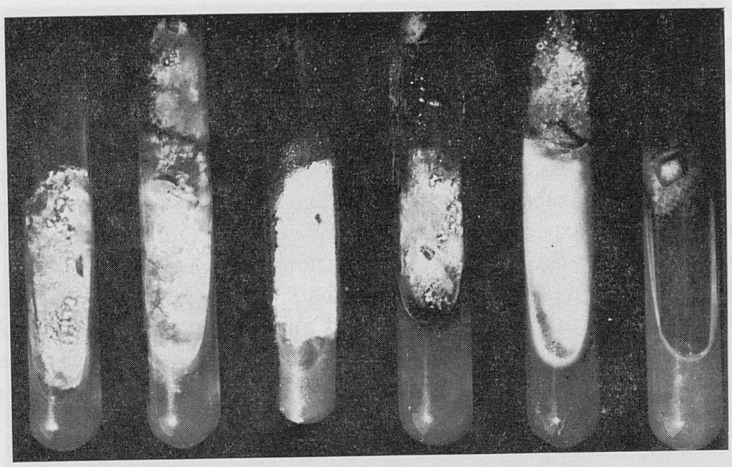


FIG. 3. — *Différentes catégories de mycélium observées en tube*

De droite à gauche : : Type 1 (grisonnant) ; Type 3 (exubérant cotonneux) ; Type 4 (ras, peu développé, rougissant) ; Type 2 (aspect farineux) ; Type 5 (cordons et cotonneux) ; Type 6 (mycélium ras, à zones de croissance).

— *Type I :* Colonie superficielle, de faible extension, de couleur grise, peu vigoureuse. Le repiquage sur boîtes de ces colonies s'est toujours soldé par un échec, leur croissance ayant été nulle. Elles représentent environ 15 p. 100 des souches observées.

— *Type II :* Aspect farineux, ras, développement à la surface du milieu, qui reste très peu coloré en brun clair. Ces souches constituent à peine 6 p. 100 des observations.

— *Type III :* Mycélium très exubérant, très aérien, d'aspect cotonneux, milieu rougissant. Ces souches représentent 8 p. 100 des observations.

— *Type IV :* Mycélium ras, peu développé, milieu très fortement rougissant. Ces souches représentent 14 p. 100 des observations, se repiquent bien sur boîte de Petri, et y présentent le plus souvent une assez forte coloration violacée du mycélium.

— *Type V :* Mycélium bien développé, formant de nombreux cordons, quelquefois légèrement cotonneux, milieu peu coloré. Ce type constituant 8 p. 100 des observations est nettement différent de la souche d'origine.

— *Type VI :* Mycélium ras, diffus, blanc, présentant une croissance par zones. Ce type est le moins abondant : 3 p. 100 des cultures.

Ces différents types sont pour la plupart observés lorsque des variétés commerciales variées sont cultivées sur un même milieu. Cependant une telle variation est étonnante à partir d'une même souche fragmentée.

2. — *Observation des isolements en boîte*

L'observation en boîte de Petri permet de mieux caractériser l'aspect des colonies. L'utilisation de deux milieux avait en outre pour but de déceler éventuellement la présence d'altérations des chaînes métaboliques pouvant être employées comme marqueurs biochimiques (auxotrophes).

La totalité des colonies du type I précédent n'a pas repris, ni sur milieu complet, ni sur minimum. Une seconde tentative de repiquage a également échoué, puis les souches correspondantes ont dégénéré dans le tube. Il est probable que leur très faible vigueur reflète des altérations métaboliques si fondamentales qu'elles sont totalement incompatibles avec une croissance normale.

Toutes les autres colonies repiquées se sont développées sur les deux milieux. On n'a donc pu isoler aucun auxotrophe. Par contre des différences importantes de comportement et d'aspect, de même nature que celles qui avaient été observées sur tube, ont permis de confirmer les observations précédentes.

Une première grande différenciation en deux catégories a pu être faite suivant que les colonies présentaient le même aspect sur les deux milieux utilisés, ou, au contraire, se comportaient très différemment (fig. 4). Ce dernier comportement est stable pour un peu moins de la moitié des souches concernées, et ne peut donc être attribué au hasard ou à un effet non contrôlé du milieu.

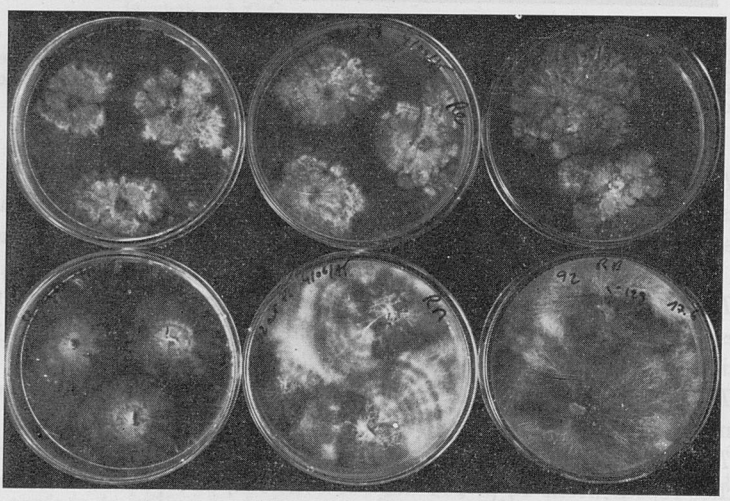


FIG. 4. — *Comportement différent des souches sur deux milieux*
En haut, milieu complet ; En bas, milieu minimum ;
Trois souches différentes sont représentées de gauche à droite

Dans le cas des colonies se comportant de la même façon sur les deux milieux, les catégories définies pour les cultures en tubes se retrouvent toutes, à l'exception du type I déjà cité. Les mycéliums colorés ont un aspect particulièrement remarquable et paraissent très stables au cours des repiquages successifs.

Parmi les colonies présentant des différences de comportement suivant le milieu, deux catégories ont également pu être distinguées. Certaines colonies présentent un aspect identique sur les deux boîtes de milieu minimum (fig. 5), et ce comportement est stable au cours des repiquages successifs à partir de la souche d'origine. D'autres, au contraire, ont un comportement très variable d'une boîte à l'autre (fig. 6). En fait, cette variabilité est observée même à l'intérieur d'une boîte, certains secteurs paraissant cotonneux, d'autres présentant des cordons, d'autres encore une zonation très nette. Ces souches de phénotype apparemment non fixé sont les plus nombreuses.

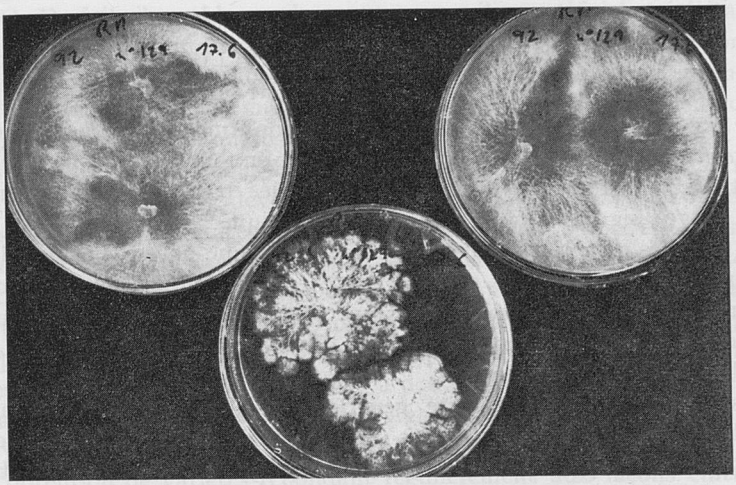


FIG. 5. — *Aspect différent d'une même souche sur les deux milieux utilisés*

FIG. 6. — *Comportement des souches sur un même milieu*

Les deux souches de gauche et de droite ont le même comportement dans les deux boîtes. La souche placée au centre présente un aspect différent dans les deux boîtes

3. — *Comportement des souches issues d'une nouvelle fragmentation*

Une souche dont le comportement était particulièrement régulier a été à nouveau fragmentée suivant le processus déjà mentionné, après qu'elle ait été suffisamment multipliée. Tous les comportements observés lors de la première fragmentation ont à nouveau été enregistrés à l'exception du type I. La souche choisie était assez vigoureuse, et ce caractère semble avoir été conservé par toutes les cultures qui en sont issues. La coloration violette de la colonie initiale ne s'est par contre maintenue que chez les deux tiers des cultures issues de fragmentation environ.

IV. — DISCUSSION ET CONCLUSION

Cette expérimentation a été entreprise pour confirmer l'hétérogénéité du mycélium d'*Agaricus bisporus* que l'on pouvait attendre en fonction de son cycle de développement. Cette hétérogénéité a déjà été signalée par différents auteurs. Ainsi FRITSCHE (1970) signale l'apparition d'un mycélium laineux dans ses cultures, mycélium dont les caractères sont très voisins de ce que nous avons appelé le type « cotonneux ». De même, PENG et WU (1972), en fragmentant un mycélium d'une souche commerciale d'*Agaricus bisporus* ont vu apparaître des aspects morphologiques assez voisins de ceux que nous avons observés dans nos cultures. Le phénomène semble donc être assez général.

L'existence d'une hétérogénéité génétique a d'autre part été établie par l'observation de souches auxotrophes après fragmentation (FRASER et FUJIKAWA, 1958 ; C. A. et J. R. RAPER, 1972 ; WANG, 1972). Malheureusement, aucune relation n'a été faite entre hétérogénéité morphologique et biochimique. Or, il serait particulièrement intéressant de vérifier que la variation constatée dans l'aspect des colonies et la physiologie du mycélium est en rapport avec l'apparition, en culture, de phénotypes particuliers pour les carpophores. L'existence de types de carpophores morphologiquement caractéristiques de souches obtenues après isolement monospore (BORZINI et CERUTI-SCURTI, 1959) permet de penser que l'hétérogénéité phénotypique des mycéliums obtenus après fragmentation doit se traduire par des différences de comportement agronomique. Ceci va être vérifié par la mise en production expérimentale de quelques souches typiques.

La nature des variations constatées ne peut pas encore être expliquée. Il est seulement possible d'émettre quelques hypothèses entre lesquelles un travail expérimental ultérieur permettra de choisir, lorsque l'on disposera d'un nombre suffisant de gènes marqueurs pour suivre le comportement de chaque noyau.

Le mycélium d'*Agaricus bisporus* est constitué d'articles plurinucléés : on peut observer de 4 à 25 noyaux par article, noyaux dont les divisions sont asynchrones (HOU et WU, 1972). Dans ces conditions, il est vraisemblable que des « dosages » différents entre les deux types nucléaires présents initialement dans la basidiospore sont produits sans cesse. Soumis à la pression sélective du milieu dans lequel se développe le champignon, ils conduisent à une hétérogénéité génotypique considérable. Si l'on considère en plus comme probable la migration des noyaux au travers des pores septaux, migration qui a été mise en évidence chez un autre Basidiomycète, *Schizophyllum commune* (SNIDER et RAPER, 1958), la variété de champignon n'a plus rien de comparable avec ce que l'on désigne sous ce vocable lorsque l'on s'intéresse à une plante supérieure : la souche n'est qu'une population hétérogène de noyaux, en perpétuelle évolution sous l'influence du milieu. Ainsi, les articles homocaryotiques peuvent représenter de 1 à 50 p. 100 des extrémités d'hyphes d'un même mycélium hétérocaryotique (C. A. et J. R. RAPER, 1972).

Une autre explication pourrait peut-être être apportée en fonction de résultats récents obtenus sur une plante supérieure. En effet, la culture *in vitro* de masses cellulaires indifférenciées de Laitue fait apparaître des phénotypes inexplicables par le simple jeu de l'hérédité mendélienne classique chez cette espèce autofertile

(SIBI, 1976). En fait, il semble que le passage sur milieu artificiel et à l'état indifférencié d'un certain nombre de cellules modifie (par la suppression des corrélations intercellulaires, ou par de nombreux autres facteurs encore mal déterminés) l'état induit ou réprimé de certains mécanismes morphogènes génétiquement contrôlés. Cette situation présente des analogies certaines avec celle dans laquelle sont placés les fragments de mycélium que nous avons observés. En outre, elle est constamment réalisée lorsque le champignon se développe dans un compost nécessairement hétérogène.

Si les variations constatées sont encore très mal comprises, il est certain qu'elles doivent contribuer pour une large part à la variabilité des caractéristiques agronomiques des variétés commerciales de champignon de couche. Depuis l'origine de la culture (soit pendant près de trois cents ans) la propagation de l'espèce s'est effectuée presque exclusivement par la voie végétative. L'effet sélectif exercé par le milieu très particulier qu'est le compost n'a donc pas permis, en l'absence de toute recombinaison méiotique, l'évolution de l'Agaric vers une meilleure homogénéité des génotypes.

Or, l'obtention de variétés répondant régulièrement aux façons culturales est une nécessité impérieuse pour que la culture puisse être mécanisée, et la mécanisation est actuellement le principal moyen de la rentabiliser. Dans ces conditions il est indispensable de pouvoir maîtriser le génotype des variétés utilisées, avant d'entreprendre une amélioration génétique pour des caractères particuliers. Il est vraisemblable que le premier critère de sélection d'une nouvelle souche doit être la régularité de son comportement, et le second la stabilité dans le temps de ses caractéristiques.

Reçu pour publication en octobre 1976.

SUMMARY

PHENOTYPICAL VARIATIONS IN A COMMERCIAL STRAIN OF *AGARICUS BISPORUS* L.

The object of this work was to demonstrate that the mycelium of a commercial strain of the cultivated mushroom had heterogeneous phenotypic and genotypic characters.

The mycelium of *Agaricus bisporus* is constituted by cells containing a variable number of nuclei. Therefore each cell has a varying metabolic capacity and a quite different adaptation to a given substrate.

The mycelium was fragmented and transferred on agar plates. The resulting colonies were isolated and observed on both a complete and a minimum media.

Six types of colonies were isolated presenting a morphological aspect positively different from the original strain. For some of these, the growth response was not equivalent on the complete medium and on the minimum medium, but no auxotrophic isolate was detected.

The heterogeneous genotype of the mycelium may in fact explain the observed changes of the phenotype of a given strain growing on a given medium. It may help to understand the variable cropping results obtained in commercial production.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BORZINI G., CERUTI SCURTI J., 1959. Growing of monosporous strains of *Psalliota campestris* (Cultivated Form). *Mushroom Sci.*, **4**, *MGA*, Copenhagen, 132-135.

FRASER J. M., FUJIKAWA B. S., 1958. The growth promoting effect of several amino acids on the common cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*. *Mycologia*, **50**, 538-549.

FRITSCHE G., 1970. Versuche zum Problem der Flauschbildung beim Kulturchampignon. *Champignon Bonn* 16-20, *Theor. appl. Genetics*, **40**, 322-326.

HOU H. H., WU L. C., 1972. Nuclear behaviour of cultivated mushroonm. *Bot. Bull. Acad. Sinica*, 13, (2), 82-91.

PENG J. T., WU L. C., 1972. Variations in the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. *Mushroom Sci.* **8**, *MGA*, RL Edwards ed., London, 103-113.

RAPER C. A., RAPER F. R., MILLER R. E., 1972. Genetic analysis of the life cycle of *Agaricus bisporus*. *Mycologia*, **64** (5), 1088-1117.

SIBI M., 1976. La notion de programme génétique chez les végétaux supérieurs. II. — Aspect expérimental — Obtention de variants par culture de tissus *in vitro* sur *Lactuca sativa* L. — Apparition de vigueur chez les croissements. *Ann. Amelior. Plantes* **26**, (sous presse).

SNIDER P. J., RAPER J. R., 1958. Nuclear migration in the Basidiomycète, *Schizophyllum commune*. *Amer. J. Bot.*, **45**, 538-546.

WANG H. H., 1972. Existence of auxotrophic nuclei in non-irradiated mycelial fragments of the commercial cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*. *Mushroom Sci.* **8**, Edwards ed., London, 453-459.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (3), 465-471.

LA GÉNÉTIQUE DU CHAMPIGNON DE COUCHE, *AGARICUS BISPORUS* L.

C. BRIAN, Micheline IMBERNON et J. GUINBERTEAU

Station de Recherches sur les Champignons,
Centre de Recherches de Bordeaux, I. N. R. A.,
Pont de la Maye, 33140 Villenave d'Ornon

RÉSUMÉ

Les connaissances relatives à la génétique du champignon de couche, *Agaricus bisporus*, sont inventoriées, en insistant plus particulièrement sur ce qui est nécessaire à l'exécution d'un programme de sélection par hybridation. Le point le plus important a été l'établissement du cycle de développement du champignon. Un certain nombre de données contradictoires demandent cependant à être précisées.

Les premières connaissances sur la transmission héréditaire des caractères ont été obtenues par MENDEL avec le pois cultivé. Un progrès important a ensuite été accompli par MORGAN au début du siècle, grâce à la mouche du vinaigre, la Drosophile, ce qui a abouti à la théorie chromosomique de l'hérédité. Puis une étape décisive de la Génétique a été atteinte lorsque les chercheurs ont commencé, peu après 1930, à s'intéresser aux champignons. Ce matériel a permis de comprendre de quelle manière les gènes conditionnent le fonctionnement de la cellule : il a autorisé le passage d'une description formelle de la transmission des caractères à une analyse physiologique de leur expression.

On pourrait donc s'attendre à ce qu'une masse considérable d'informations soit à la disposition des généticiens qui se proposent d'améliorer les espèces de champignons cultivés. Il n'en est malheureusement rien. En effet, les recherches citées ont eu pour objet de comprendre l'hérédité, non de l'utiliser. Elles ont donc été effectuées sur des matériels choisis en fonction de leur facilité de manipulation en laboratoire, et non de leur intérêt économique. Ainsi trois basidiomycètes seulement ont-ils fait l'objet d'études génétiques approfondies : *Schizophyllum commune*, *Coprinus lagopus* et *Coprinus radiatus*, bien que tous les champignons cultivés appartiennent à ce groupe.

Or, l'établissement d'un programme de sélection par hybridation suppose que l'on possède :

— la connaissance du mécanisme de reproduction de l'espèce étudiée, ce qui permettra d'agir sur les associations de caractères héréditaires qui constituent l'individu ;

— la connaissance du déterminisme génétique des caractères qui présentent un intérêt du point de vue agronomique.

L'utilisation de croisements interspécifiques exige bien entendu que ces renseignements soient acquis pour chacune des espèces employées.

Le cycle d'un basidiomycète typique (hyménomycète) peut être illustré en prenant comme exemple *Schizophyllum commune* (fig. 1), qui est particulièrement bien connu et dont le mode de reproduction est analogue à celui du champignon de couche.

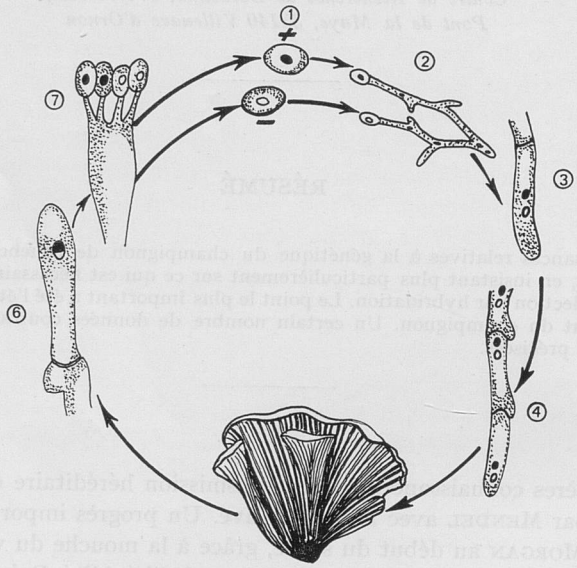


FIG. 1. — *Cycle de* Shizophyllum commune
(adapté de ESSER et KUENEN, 1967)

1 : Basidiospores
2 : Hyphes haploïdes
3 : Cellules dicaryotiques
4 : Mycélium avec anses d'anastomose
5 : Carpophore
6 : Jeunes basides
7 : Baside à maturité

Trois points retiennent particulièrement l'attention :

— la phase diploïde est extrêmement courte (c'est le seul stade six) et se situe dans la baside ;

— les hyphes haploïdes et dicaryotiques peuvent se développer très longtemps et constituent la plus grande partie du cycle végétatif du champignon ;

— seul le mycélium dicaryotique, reconnaissable à ses anses d'anastomose, peut former un carpophore qui portera les basides à l'intérieur desquelles aura lieu la méiose, préalable indispensable à une reproduction sexuée.

Les anses d'anastomose qui se forment à l'extrémité des hyphes constituent apparemment un mécanisme qui assure la présence, dans chaque cellule mycélienne, de deux noyaux de signe sexuel différent.

Par rapport à ce modèle, le champignon de couche possède un certain nombre de particularités qui ne permettent pas de le considérer comme un basidiomycète typique :

— il n'a pu être observé qu'un seul type de mycélium, qui ne présente jamais d'anses d'anastomose ;

— le nombre de noyaux par cellule mycélienne est très variable, mais rarement égal à deux ; il se situe généralement entre six et vingt-cinq (EVANS, 1959) ; il semble en outre diminuer avec l'âge de la culture (WANG et WU, 1976) ;

— il n'y a aucune synchronisation entre division cellulaire et division des noyaux ;

— le mycélium est normalement fertile, et le développement du carpophore conduit à la formation régulière de basides à deux spores binucléées. Cependant, avec une fréquence variable suivant la souche considérée, on trouve également des basides à trois ou quatre spores.

J. R. et C. A. RAPER, supposant que le comportement particulier d'*Agaricus bisporus* était le résultat de modifications acquises par l'espèce à partir du cycle typique des basidiomycètes, ont cherché à préciser les points suivants :

— Quelle est la nature du noyau végétatif (haploïde, diploïde, ou même polyploïde)?

— Le mycélium est-il bien hétérocaryotique, donc présentant l'association de deux ou plusieurs noyaux génétiquement distincts?

— Est-ce qu'une méiose typique se déroule bien dans les basides, conduisant à une recombinaison de caractères héréditaires portés par les deux noyaux qui fusionnent?

— Quelles sont les relations entre les deux noyaux des basidiospores?

— Existe-t-il un cycle sexuel, et, dans l'affirmative, quel est son contrôle génétique?

I. — MARQUAGE GÉNÉTIQUE DES SOUCHES

Pour pouvoir répondre aux questions précédentes, il était nécessaire de disposer d'un certain nombre de caractères dont la transmission héréditaire serait facilement suivie. Or, presque toutes les tentatives pour détecter des ségrégations mendéliennes par appariement d'isolats stériles (KLIGMAN, 1943) ou fertiles (MOESSNER, 1962 ; FRITSCHE, 1964) en s'intéressant à des caractères morphologiques ont abouti à un échec. Il n'a donc été possible de comprendre le cycle d'*Agaricus bisporus* que lorsqu'on a pu disposer d'un certain nombre de marqueurs biochimiques.

L'existence de telles déficiences biochimiques est connue depuis longtemps dans les souches commerciales de champignon de couche. On peut citer le travail de JENNISON, NEWCOMB et HENDERSON (1955) qui ont montré que trois lignées expérimentales tirées de souches communément cultivées ne synthétisaient pas suffisamment de thiamine, étaient incapables de se développer sur un milieu dépourvu de phénylalanine et présentaient des réductions variables d'une souche à l'autre quant à leur capacité à former la méthionine et la proline. De même FRASER et FUJI-

KAWA (1958) ont constaté que certaines souches commerciales devaient être cultivées sur des milieux contenant des acides aminés différents pour avoir une croissance optimale.

La fragmentation d'un mycélium en éléments de deux à quatre articles, par broyage, a montré que ces différences de capacité de synthèse existaient aussi entre cellules d'un même mycélium (C. A. et J. R. RAPER, 1972 ; PENG et WU, 1972 ; WANG, 1972).

Cependant, l'obtention de déficiences biochimiques par traitement mutagène (RAPER, 1972) a permis un progrès décisif dans l'élucidation du cycle d'*Agaricus bisporus*, tout particulièrement avec des lignées déficientes pour la synthèse de l'arginine (arg^-) et la proline (pro^-). Il devenait possible de marquer biochimiquement des mycéliums que l'on ne pouvait distinguer du point de vue morphologique.

II. — ÉTABLISSEMENT DU CYCLE D'*AGARICUS BISPORUS*

A. — *Existence d'une différenciation sexuelle des mycéliums haploïdes*

A partir de basides tétrasporées, des isolements monospores ont donné des mycéliums ne formant pas de carpophores. La combinaison deux à deux de ces lignées stériles et le repiquage de la zone de contact entre les deux mycéliums a montré qu'il était alors possible, dans certains cas, de retrouver une souche fertile (MILLER, 1971). Ceci a constitué la première indication d'une différenciation sexuelle chez *Agaricus bisporus*.

Les travaux ultérieurs d'ELLIOTT (1972), de MILLER et KANANEN (1972) et de C. A. et J. R. RAPER (1972) ont confirmé l'existence de cette différenciation sexuelle. La sexualité du champignon de couche est du type bi-polaire, c'est-à-dire qu'à partir de basides tétrasporées on obtient des mycéliums haploïdes qui possèdent soit l'allèle A_1, soit A_2. La réalisation d'un dicaryon fructifère n'est possible que par association d'un mycélium A_1 avec un mycélium A_2.

Les données actuellement disponibles ne sont pas assez abondantes pour savoir si, comme chez la plupart des basidiomycètes présentant ce type de sexualité, il existe une série allélique multiple, de l'ordre d'une trentaine d'allèles différents. La détermination du nombre d'allèles sexuels existant dans l'espèce *Agaricus bisporus* permettrait de tirer des conclusions très intéressantes sur son origine, et sur ses relations avec les autres Agarics, ce qui peut avoir des applications importantes pour un programme d'amélioration.

B. — *Établissement des étapes importantes du cycle*

Des réponses pleinement convaincantes aux questions posées précédemment ont été apportées par un travail décisif de C. A. et J. R. RAPER (1972). La première concerne l'existence d'un mycélium hétérocaryotique stable obtenu par croisement de deux homocaryons sexuellement compatibles.

A partir de deux mycéliums de type sexuel différent et présentant chacun une altération biochimique particulière (donc incapables de se développer sur le milieu

minimum), il a été possible d'obtenir un mycélium se développant sur le milieu minimum. Ceci constitue une preuve d'hétérocaryose.

Les deux mycéliums utilisés présentaient respectivement le génotype suivant : A_2 adé$^-$ (incapable de synthétiser l'adénine) et A_1 x^- (déficicence de nature non déterminée). La fragmentation des hyphes résultant de la fusion a fourni une confirmation de la nature hétérocaryotique du mycélium puisqu'il a été possible de retrouver des isolats présentant soit l'altération adé$^-$, soit l'altération x^- (C. A. et J. R. RAPER, 1972).

L'existence d'une méiose, qui se situe obligatoirement dans les basides, a également été établie par les mêmes auteurs. En effet, à partir de deux croisements différents effectués entre des lignées marquées par une déficience biochimique : adé$^-$ A_2 × pro$^-$ A_1 et adé$^-$ A_2 × x^- A_1, il a été observé dans la descendance des lignées doublement déficientes, adé$^-$ pro$^-$ et adé$^-$ x^-, incapables de se développer sur le milieu minimum. Ceci ne peut être expliqué autrement que par la recombinaison, au cours de la méiose, des caractères adé$^-$ et pro$^-$ ou adé$^-$ et x^-.

Enfin, il a été constaté, sans qu'une explication puisse être fournie, qu'il y avait systématiquement inclusion de deux noyaux compatibles dans chaque basidiospore binucléée.

L'ensemble de ces résultats a permis de schématiser le cycle d'*Agaricus bisporus* comme il est indiqué à la figure 2.

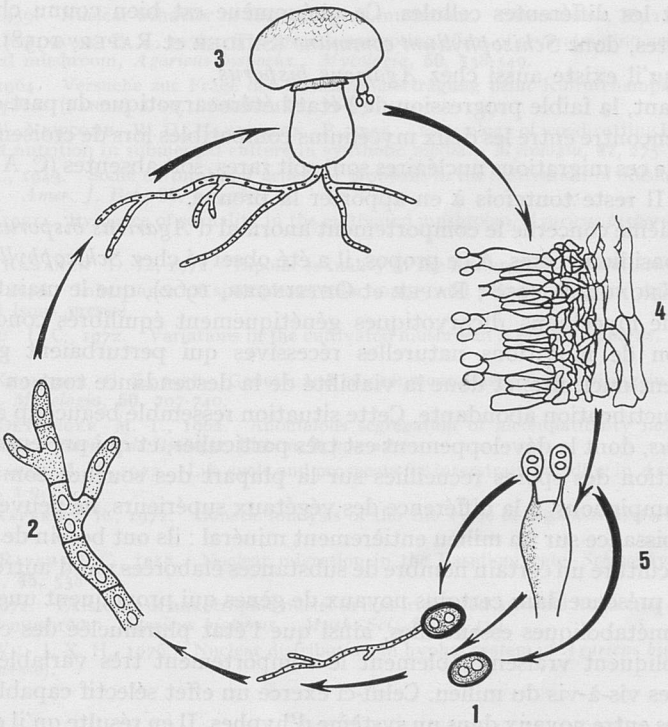


FIG. 2. — *Cycle de reproduction de l'*Agaricus bisporus

1 : Basidiospores binucléées
2 : Mycélium dicaryotique issu d'une spore
3 : Mycélium dicaryotique fructifère et carpophore
4 : Hyménium et ses basides
5 : Baside bisporée

III. — DISCUSSION ET CONCLUSION

Un certain nombre de connaissances essentielles pour l'établissement des programmes d'amélioration par hybridation ont ainsi été acquises récemment. Cependant il demeure quelques points importants à préciser.

Le premier concerne la nature de l'hétérocaryon fructifère. Les résultats obtenus par les différents auteurs cités (C. A. et J. R. RAPER, 1972 ; PENG et WU, 1972 ; WANG, 1972 en particulier) montrent qu'il est constitué par un mélange d'hyphes contenant les deux types de noyaux initiaux en proportions variables, certaines étant homocaryotiques et incapables de pousser sur le milieu minimum. Les articles homocaryotiques peuvent ainsi représenter de 1 à 50 p. 100 des extrémités d'hyphes dans un même mycélium (C. A. et J. R. RAPER, 1972). Il reste à déterminer dans quelle mesure les cellules dont la constitution génétique est mieux équilibrée sont capables d'assurer la survie de ces « auxotrophes » mais il est très vraisemblable qu'une coopération intercellulaire permet le maintien d'une grande diversité génétique à l'intérieur d'un mycélium.

Le second concerne d'éventuelles migrations nucléaires par les pores septaux qui séparent les différentes cellules. Ce phénomène est bien connu chez plusieurs basidiomycètes, dont *Schizophyllum commune* (SNIDER et RAPER, 1958). Il n'est pas impossible qu'il existe aussi chez *Agaricus bisporus*.

Cependant, la faible progression de l'état hétérocaryotique de part et d'autre de la ligne de rencontre entre les deux mycéliums compatibles lors de croisements permet de penser que ces migrations nucléaires sont soit rares, soit absentes (C. A. et J. R. RAPER, 1972). Il reste toutefois à en apporter la preuve.

Le troisième concerne le comportement anormal d'*Agaricus bisporus* par rapport aux autres basidiomycètes. A ce propos, il a été observé chez *Schizophyllum commune* (RAPER et KRONGELB, 1958 ; RAPER et OETTINGER, 1962), que le maintien prolongé en culture de mycéliums dicaryotiques génétiquement équilibrés conduisait à une accumulation de mutations naturelles récessives qui perturbaient gravement le comportement nucléaire, et donc la viabilité de la descendance tout en laissant subsister une fructification abondante. Cette situation ressemble beaucoup à celle d'*Agaricus bisporus*, dont le développement est très particulier, et qui présente une très faible germination des spores recueillies sur la plupart des souches commerciales.

Les champignons, à la différence des végétaux supérieurs, ne peuvent pas effectuer leur croissance sur un milieu entièrement minéral : ils ont besoin de trouver dans le milieu de culture un certain nombre de substances élaborées par d'autres organismes vivants. La présence dans certains noyaux de gènes qui provoquent une interruption de chaînes métaboliques essentielles, ainsi que l'état plurinucléé des cellules mycéliennes, expliquent vraisemblablement le comportement très variable des souches commerciales vis-à-vis du milieu. Celui-ci exerce un effet sélectif capable de modifier les équilibres entre noyaux dans un système d'hyphes. Il en résulte qu'il est impossible de tenter une modification génétique stable du champignon sans une étude parallèle de l'hérédité des principaux caractères. Les derniers résultats de MILLER (1976), qui a précisé le déterminisme de caractères morphologiques comme la forme du cha-

peau ou sa couleur, constituent un premier pas dans cette voie. Il restera à poursuivre le travail sur *Agaricus bisporus* et aussi sur les Agarics voisins, pour lesquels on ignore encore le plus souvent le cycle de développement.

Reçu pour publication en septembre 1975.

SUMMARY

GENETICS OF THE CULTIVATED MUSHROOM, *AGARICUS BISPORUS* L.

What is known about the mushroom (*Agaricus bisporus*) genetics is reviewed, and moreover what is needed for undertaking a breeding program. The most important point refers to the complete understanding of the mushroom basic life cycle. Additionnal research is needed to clarify some of the contradictory data presented here.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ELLIOT T. J., 1972. Sex and the single spore. *Mush. Sci.*, **8**, 12-18.

ESSER K., KUENEN R., 1967. *Genetics of Fungi.* Springer Verlag, New York, 500 p.

EVANS J. H., 1959. Nuclear behavior in the cultivated mushroom. *Chromosoma*, **10**, 115-135.

FRASER J. M., FUJIKAWA B. S., 1958. The growth promoting effect of several amino acids on the common cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*. *Mycologia*, **50**, 538-549.

FRITSCHE G., 1964. Versuche zur Frage der Merkmalsübertragung beim Kulturchampignon, *Agaricus* (*Psalliota*) *bisporus* (LANGE) SING. *Züchter*, **34**, 76-93.

JENNISON M. W., NEWCOMB W. D., HENDERSON P., 1955. Physiology of wood-rotting Basidiomycetes. I. Growth and nutrition in submerged culture in synthetic media. *Mycologia*, **47**, 275-304.

KLIGMAN A. M., 1943. Some cultural and genetical problems in the cultivation of mushroom, *Agaricus campestris* F_2. *Amer. J. Bot.*, **30**, 745-763.

MILLER R. E., 1971. Evidence of sexuality in the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*. *Mycologia*, **63**, 630-634.

MILLER R. E., KANANEN D. L., 1972. Bipolar sexuality in the mushroom. *Mush. Sci.*, **8**, 704-718.

MILLER R. E., 1976. Inheritance of sporophore color and « wild » morphology in *Agaricus bisporus*. *Mush. Sci.*, **9** (sous presse).

PENG J. T., WU L. C., 1972. Variations in the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. *Mush. Sci.*, **8**, 103-113.

RAPER J. R., KRONGELB G. S., 1958. Genetic and environmental aspects of fruiting in *Schizophyllum commune* F_2. *Mycologia*, **50**, 707-740.

RAPER J. R., OETTINGER M. T., 1962. Anomalous segregation of incompatibility factors in *Schizophyllum commune*. *Revista de Biologia*, Lisbon, **3**, 205-221.

RAPER C. A., RAPER J. R., 1972. Life cycle and prospects for interstrain breeding in *Agaricus bisporus*. *Mush. Sci.*, **8**, 1-9.

RAPER C. A., RAPER J. R., 1972. Genetic analysis of the life cycle of *Agaricus bisporus*. *Mycologia* **64**, 1088-1117.

SNIDER P. J., RAPER J. C., 1958. Nuclear migration in the Basidiomycete. *Schizophyllum commune*. *Amer. J. Bot.*, **45**, 538-546.

WANG H. H., 1972. Existence of auxotrophic nuclei in non-irradiated mycelial fragments of the commercial cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*. *Mush. Sci.*, **8**, 453-459.

WANG H. H., WU J. X. H., 1976. Nuclear distribution in hyphal system of *Agaricus bisporus*. *Mush. Sci.*, **9** (sous presse).

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (3), 473-483.

ANALYSE DE DEUX ESSAIS D'UNIFORMITÉ DE BETTERAVE FOURRAGÈRE (*BETA VULGARIS* L.)

F. LE COCHEC et P. SOREAU

Station d'Amélioration des Plantes,
Centre de Recherches de Rennes, I. N. R. A.,
Domaine de la Motte au Vicomte,
35650 Le Rheu

RÉSUMÉ

— La surface optimale des parcelles dans les essais de Betterave fourragère a été calculée à partir des résultats de deux essais d'uniformité faits l'un en 1972 et l'autre en 1974. Elle a été estimée respectivement à 6,76 m² et 7,65 m².

— Les parcelles longues et étroites sont préférables aux parcelles de forme carrée et les blocs de forme carrée aux blocs très allongés.

— L'augmentation du nombre des répétitions accroît plus vite la précision que l'augmentation de la taille des parcelles.

L'expérimentateur en champ est toujours confronté au problème du choix de la taille et des dimensions des parcelles dans les essais qu'il se propose de réaliser.

L'erreur expérimentale dépend de la précision avec laquelle l'expérimentation est conduite mais elle est aussi fonction de l'hétérogénéité du sol, de la surface des parcelles et du nombre des répétitions. Pour un emplacement donné ces deux derniers facteurs ne peuvent être accrus sans limite et la surface optimale de la parcelle est celle qui donne l'information désirée au moindre coût en temps et en argent.

Les essais d'uniformité ou essais à blanc dont toute la surface semée avec la même variété est découpée avant la récolte en un grand nombre de petites parcelles contiguës ont pour but de déterminer le degré d'hétérogénéité du sol, la forme et la taille optimales des parcelles, le nombre de répétitions nécessaire pour mettre en évidence une différence donnée entre traitements ainsi que l'efficacité des différents dispositifs expérimentaux.

De tels essais semblent particulièrement justifiés pour la Betterave en raison

du coût élevé et de la grande quantité de travail que représentent les essais culturaux sur cette espèce.

Cependant, depuis les premiers travaux de MERCER et HALL (1911), IMMER (1932), IMMER et RALEIGH (1933), les auteurs n'ont pas connaissance que des essais d'uniformité destinés à préciser les conditions d'expérimentation aient été faits sur Betterave fourragère ou sur Betterave à sucre.

L'expérimentation décrite ci-dessous concerne la Betterave fourragère et elle a été répétée deux années.

I. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. — *Caractères agronomiques des essais*

Les essais ont été semés en 1972 et 1974 en deux endroits différents de la Station d'Amélioration des Plantes du Rheu, à 9 km à l'Ouest de Rennes sur un sol de limons quaternaires.

Au cours de chaque hiver précédent, on a enfoui 40 tonnes de fumier, 200 unités d'acide phosphorique et 200 unités de potasse par hectare, puis 150 unités d'azote ont été épandues la veille du semis.

— En 1972, le semis a été fait le 6 avril en rangs continus perpendiculaires au sens des travaux et espacés de 0,40 m. Le démariage manuel réalisé le 2 juin a été fait soigneusement, une plante étant laissée tous les 30 centimètres sur le rang. Le pourcentage des plantes mortes en cours de végétation a été très faible. La parcelle semée comportait 126 rangs de 27 m de long, à l'intérieur de laquelle on a délimité une parcelle récoltable de 120 rangs de 25,20 m de long. Chaque rang a été divisé en six parties égales. L'essai comportait donc 720 parcelles, chaque parcelle ou unité de base étant constituée d'un rang de 4,20 m, comportant 14 racines et ayant 1,68 m² de superficie. La variété utilisée, « Tristan », une variété multigerme triploïde blanche à 15-16 p. 100 de matière sèche, a présenté 4 p. 100 de racines jaunes et 2,5 p. 100 de plantes montées a graines dont 0,8 p. 100 de montées très précoces. La récolte a eu lieu du 6 au 8 décembre 1972. Les racines de chaque unité ont été décolletées et grattées soigneusement pour les débarrasser de la terre puis rassemblées et pesées sur le champ à 50 grammes près.

— En 1974, la parcelle comportait également 120 rangs de 6 unités chacun, mais la distance entre rangs était de 0,50 m et la distance entre plantes sur le rang de 0,25 m de sorte que la surface de l'unité de base a été légèrement accrue : 1,75 m², le nombre de racines par unité restant le même. Le semis a eu lieu le 1er avril et la récolte du 9 au 11 décembre. La variété utilisée en 1974 : « Hvid Daehnfeldt » multigerme diploïde blanche à 16 p. 100 de matière sèche était homogène et n'a pas présenté de montée à graines.

— L'importance des maladies a été faible au cours des deux années.

2. — *Méthodes d'analyse statistique*

Les unités de base adjacentes ont été rassemblées pour constituer de nouvelles parcelles de base de longueur et de largeur différentes. Cependant seules les combinaisons de 1 à 60 unités sous-multiples de 720 ont été analysées.

Trois méthodes ont été utilisées pour déterminer la surface optimale des parcelles :

a) *Méthode du coefficient d'hétérogénéité ou méthode de* FAIRFIELD-SMITH :

FAIRFIELD-SMITH (1938) a établi la relation empirique suivante à partir de l'étude des résultats de 39 essais d'uniformité :

$$V_x = \frac{V_1}{x^b} \qquad (1)$$

où :

V_1 = Variance entre parcelles de une unité de base ;

V_x = Variance par unité de base pour les parcelles comportant x unités de base. Elle est calculée à partir de la relation $Vx = \frac{V(x)}{x^2}$ où $V(x)$ est la variance entre parcelles comportant x unités de base ;

b est une estimation de la corrélation existant entre unités de base adjacentes ou encore du degré d'hétérogénéité du sol.

L'équation (1) peut être exprimée sous la forme :

$$\log V_x = \log V_1 - b \log x \tag{2}$$

b peut alors être calculé comme un coefficient de régression linéaire par la méthode des moindres carrés. b varie de zéro à un, les valeurs proches de zéro correspondant à un sol homogène et les valeurs proches de un correspondant à un sol hétérogène.

Dans cette étude, b a été pondéré en fonction du nombre de degrés de liberté w correspondant à chaque valeur de $\log V_x$ suivant la formule de FEDERER (1955) :

$$b = \frac{\Sigma w_i \log Vx_i \log x_i - (\Sigma w_i \log Vx_i)(\Sigma w_i \log x_i)/\Sigma w_i}{\Sigma w_i (\log x_i)^2 - (\Sigma w_i \log x_i)^2/\Sigma w_i}$$

L'équation (1) peut s'écrire encore sous la forme générale ;

$$y = ax^{-b} \tag{3}$$

FAIRFIELD-SMITH a suggéré de tenir compte du coût de l'expérimentation dans la détermination de la surface optimale des parcelles à l'aide des deux formules suivantes :

1. Pour les parcelles non bordées :

$$x_{\text{optim.}} = \frac{b}{1 - b} \frac{K_1}{K_2} \tag{4}$$

2. Pour les parcelles bordées :

$$x_{\text{optim.}} = \frac{b}{1 - b} \frac{K_1 + Kg\ A}{K_2 + Kg\ B} \tag{5}$$

où x : taille optimale de la parcelle exprimée en mètres carrés ;
K_1 : part du coût due au nombre de parcelles de l'essai, exprimée en heures par parcelle ;
K_2 : part du coût due à la taille de la parcelle, exprimée en heures par mètre carré ;
Kg : part du coût due aux bordures, exprimée en heures par mètre carré.
A : surface des bordures aux deux extrémités de la parcelle, exprimée en mètres carrés ;
B : rapport de la surface des bordures latérales de la parcelle à la surface de la parcelle.

b) *Méthode du maximum de courbure.*

C'est la modification de cette méthode tenant compte également du coût et telle qu'elle a été utilisée par LESSMAN et ATKINS (1963) puis par MEIER et LESSMAN (1971) qui a été appliquée ici.

On a calculé le coefficient de variation pour chaque combinaison de base :

$$CV = 100 \sqrt{V(x)}/\bar{x}$$

$\bar{x}$ étant le rendement moyen en poids de racines des parcelles de x unités de base.

De la même façon que précédemment, une équation de la forme :

$$y = a'x^{-b'} \tag{6}$$

permet d'estimer la relation existant entre le coefficient de variation y et la taille des parcelles x (exprimée en unités de base).

Les constantes a' et b' s'obtiennent après conversion en logarithmes et pondération comme ci-dessus.

On détermine ensuite la région du maximum de courbure de la ligne représentant l'équation (6). La courbure K à tout point d'une ligne représentant la fonction y est : $K = y''/(1 + y'^2)^{3/2}$ y' et y'' étant les dérivées première et seconde de la fonction y. La courbure est maximum quand la dérivée de K par rapport à x est nulle, ce qui se réalise ici pour la valeur :

$$x_m = [a'^2 b'^2 (2b' + 1)/(b' + 2)]^{1/(2b' + 2)}$$

La surface optimale de la parcelle (en mètres carrés) modifiée par le coût est la suivante :

$$x_{\text{optim.}} = \sqrt{x_m \cdot A \cdot \frac{K_1}{K_2}} \qquad (7)$$

A étant la surface de l'unité de base en mètres carrés.

c) *Méthode de* HATHEWAY, *ou Convenient plot size method.*

HATHEWAY (1961) remarque que l'expérimentateur est généralement peu sensible au coût d'un essai et que ce qui l'intéresse davantage c'est de connaître le nombre de répétitions et la taille des parcelles nécessaire pour mettre en évidence une différence donnée entre deux traitements.

La formule suivante exprime la relation existant entre ces trois facteurs :

$$d^2 = \frac{2(t_1 + t_2)^2 C_1^2}{r x^b}$$

d : la vraie différence que l'on veut mettre en évidence entre deux moyennes. (C'est la différence qui pourrait être déterminée après un grand nombre d'essais). Elle est exprimée en pour cent de la moyenne ;
t_1 : valeur de t lue dans la table pour le seuil de signification ;
t_2 : valeur de t correspondant à la probabilité $2(1 - P)$ où P est la probabilité d'obtenir un résultat significatif ;
C_1^2 : carré du coefficient de variation pour les parcelles d'une unité de base ;
r : nombre de répétitions de l'expérience ;
x : taille de la parcelle en nombre d'unités de base ;
b : coefficient d'hétérogénéité.

C_1 et b étant connus à partir des résultats d'essais d'uniformité et les seuils de signification étant fixés à l'avance, il est alors possible de calculer la relation existant entre d et x pour des nombres différents de répétitions.

II. — RÉSULTATS

1. — *Calcul de b, coefficient d'hétérogénéité du sol*

Les variances entre parcelles de x unités de base, les variances par unité de base de ces parcelles de x unités et les coefficients de variation pour le poids des racines ont été calculés en 1972 et en 1974. Toutes les tailles et formes de parcelles comprises entre 1 et 60 unités qui conviennent ont été utilisées. Les résultats sont reportés sur le tableau 1.

Les valeurs calculées pour b d'après l'équation (2) sont :

en 1972 : $b = 0{,}270 \pm 0{,}058$;
en 1974 : $b = 0{,}339 \pm 0{,}046$.

L'application de la formule de FEDERER a entraîné chaque année une augmentation des valeurs de b :

en 1972 : $b = 0{,}325$ $\quad a = 2{,}49$;
en 1974 : $b = 0{,}397$ $\quad a = 1{,}40$.

Ce sont ces valeurs pondérées de b et qui correspondent à une homogénéité du sol plutôt élevée pour les deux parcelles considérées qui ont été utilisées dans les calculs ci-après.

TABLEAU I

Variation du poids des racines pour différentes tailles de parcelles en 1972 et en 1974

Surface et forme des parcelles (en unité de base)			1972			1974		
Surface	Longueur	Largeur	V(x)	Vx	CV	V(x)	Vx	CV
1	1	1	2,8	2,84	10,47	1,5	1,55	8,38
2	1	2	7,4	1,84	8,43	3,9	0,97	6,64
	2	1	8,0	2,01	8,80	3,9	0,97	6,62
3	1	3	14,0	1,55	7,74	7,6	0,84	6,18
	3	1	13,7	1,53	7,68	6,4	0,71	5,59
4	1	4	23,2	1,45	7,49	12,2	0,77	5,89
	2	2	23,4	1,47	7,52	10,9	0,68	5,56
5	1	5	34,9	1,40	7,34	18,3	0,73	5,77
6	1	6	49,9	1,39*	7,32	25,1	0,70*	5,62
	2	3	47,2	1,31*	7,12	22,1	0,61	5,28
	3	2	41,2	1,14	6,65	19,1	0,53	4,91
	6	1	33,7	0,94	6,01	17,5	0,49	4,70
	1	8	83,5	1,30	7,10	41,6	0,65	5,43
	2	4	82,3	1,29	7,05	38,0	0,59	5,19
9	3	3	84,4	1,04	6,35	39,4	0,49	4,70
10	1	10	121,5	1,22	6,85	60,0	0,60	5,22
	2	5	121,8	1,22	6,86	55,5	0,56	5,02
12	1	12	174,0	1,21*	6,83	81,6	0,57	5,07
	2	6	175,3	1,22*	6,86	78,7	0,55	4,98
	3	4	148,6	1,03	6,31	67,6	0,47	4,62
	6	2	101,9	0,71	5,23	56,5	0,39	4,22
15	1	15	264,3	1,17	6,74	122,7	0,55	4,98
	3	5	219,3	0,97	6,14	101,2	0,45	4,52
16	2	8	295,4	1,15	6,68	131,2	0,51	4,82
18	3	6	320,4	0,99	6,18	142,8	0,44	4,47
	6	3	201,6	0,62	4,90	120,7	0,37	4,11
20	1	20	457,0	1,14	6,64	188,9	0,47	4,63
	2	10	443,5	1,11	6,55	188,1	0,47	4,62
24	1	24	603,1	1,05	6,36	276,4	0,48	4,67
	2	12	627,4	1,09	6,49	274,4	0,48	4,65
	3	8	524,6	0,91	5,93	244,0	0,42	4,39
	6	4	363,7	0,63	4,94	207,8	0,36	4,05
30	1	30	904,6	1,01	6,23	289,7	0,32	3,82
	2	15	983,1	1,09	6,50	410,7	0,46	4,55
	3	10	794,6	0,88	5,84	349,1	0,39	4,20
	6	5	522,1	0,58	4,73	314,6	0,35	3,98
36	3	12	1 131,8	0,87	5,81	502,7	0,39	4,20
	6	6	788,2	0,61	4,85	456,2	0,35	4,00
40	1	40	1 354,8	0,85	5,72	628,9	0,39	4,22
	2	20	1 715,1	1,07	6,44	615,4	0,38	4,18
45	3	15	1 787,3	0,88	5,84	751,7	0,37	4,10
48	2	24	2 258,8	0,98	6,15	970,2	0,42	4,37
	6	8	1 233,6	0,54	4,55	780,6	0,34	3,92
60	1	60	2 561,4	0,71	5,24	584,4	0,16	2,71
	2	30	3 440,7	0,96	6,08	932,9	0,26	3,43
	3	20	3 064,6	0,85	5,73	1 156,8	0,32	3,82
	6	10	1 886,8	0,52	4,50	1 145,2	0,32	3,80

V(x) : Variance entre parcelles de x unités de base.
Vx : Variance par unité de base des parcelles de x unités de base.
CV : Coefficient de variation en p. 100.
* : Différences significatives (0,05) avec les parcelles 6 × 1 ou 6 × 2 pour les parcelles de 6 et de 12 unités de base.

La longueur des parcelles est comptée dans le sens des rangs et la largeur dans le sens perpendiculaire aux rangs.

2. — *Estimation de la surface optimale des parcelles*

a) *Méthode du coefficient d'hétérogénéité.*

Les coûts en heures de travail associés aux parcelles, à la surface utile récoltée et à la surface des bordures sont représentés sur le tableau 2. Ces chiffres correspondent aux temps consacrés aux différentes opérations culturales à la Station d'Amélioration des Plantes de Rennes et ne sont pas forcément valables en un endroit différent. Il faut remarquer en particulier qu'il ne s'agit pas d'un semis en place mais d'un semis continu sur la ligne nécessitant ultérieurement un démariage manuel.

TABLEAU 2

Estimation du nombre d'heures nécessaire pour évaluer le rendement en matière sèche dans un essai de Betterave fourragère comportant 200 parcelles bordées de 15 m² chacune et de 11 m² de superficie récoltée

	Total	K_1	K_2	Kg
Conception de l'essai	8	8	0	0
Préparation du sol	10	0	7,3	2,7
Préparation du semis	8	8	0	0
Traçage des parcelles	8	8	0	0
Semis	40	30	7,3	2,7
Prédémariage et démariage	120	0	88	32
Traitements herbicides	1	0	0,7	0,3
Observations	34	34	0	0
Analyses matières sèches	32	32	0	0
Récolte et pesées	130	65	65	0
Report des observations et calculs	40	40	0	0
TOTAL	431	225	168,3	37,7

K_1 : Nombre d'heures associé aux parcelles.
K_2 : Nombre d'heures associé à la surface récoltée.
Kg : Nombre d'heures associé aux bordures.

L'arrachage des racines est fait à la main. La pesée est faite directement sur le champ. Ces chiffres ne sont pas valables d'autre part pour la Betterave à sucre pour laquelle le temps consacré à la récolte et aux analyses de sucre serait sans doute différent.

Dans ces conditions les valeurs calculées ont été les suivantes :

$K_1 = 1{,}1250$ heure par parcelle ;
$K_2 = 0{,}076545$ heure par mètre carré de surface récoltée ;
$Kg = 0{,}047000$ heure par mètre carré de bordure ;
$A = 1{,}25$ m² ;
$B = 0{,}25$.

Les formules (4) et (5) ont permis de calculer les surfaces optimales :

en 1972 : Parcelles bordées : 6,46 m²
Parcelles non bordées : 7,08 m²

en 1974 : Parcelles bordées : 8,84 m²
Parcelles non bordées : 9,69 m²

b) *Méthode du maximum de courbure.*

Les constantes a' et b' ont été estimées également après pondération par les degrés de liberté :

en 1972 : $a' = 10{,}05$ $b' = 0{,}172$
en 1974 : $a' = 7{,}97$ $b' = 0{,}199$

Les valeurs de x, en unités de base, correspondant aux points de maximum de courbure étaient en 1972 $x_m = 1{,}30$ et en 1974 $x_m = 1{,}22$.

Ces valeurs modifiées par le coût suivant la formule (7) ont donné les surfaces optimales suivantes :

en 1972 : Parcelles bordées : 5,41 m²
Parcelles non bordées : 5,67 m²

en 1974 : Parcelles bordées : 5,35 m²
Parcelles non bordées : 5,60 m².

Les chiffres obtenus les deux années sont très voisins et inférieurs à ceux obtenus par la première méthode.

FAIRFIELD-SMITH donne la formule :

$$y = bz^{(1-b)} + (1 - b)z^{-b}$$

où y est le coût relatif d'une parcelle par rapport à la parcelle de taille optimales et z le rapport de la taille de la parcelle utilisée à la taille de la parcelle optimales.

L'efficacité de la surface de parcelle calculée par la méthode du maximum de courbure comparée à la surface calculée d'après la méthode de FAIRFIELD-SMITH est de 99,7 p. 100 en 1972 et de 97,1 p. 100 en 1974. (Ceci pour les parcelles bordées). Des chiffres analogues pourraient être obtenus pour les parcelles non bordées. En fait la méthode du maximum de courbure n'entraîne donc qu'une très faible perte d'efficacité.

c) *Méthode de* HATHEWAY.

Chaque année les valeurs de d en fonction de la taille des parcelles (x variant de 1 à 20) ont été calculées pour 2, 3, 4, 6 et 12 répétitions (fig. 1). A titre d'exemple, les valeurs de t ont été calculées pour des essais en blocs comportant 10 traitements et dont la précision recherchée est suffisante pour mettre en évidence la vraie différence au niveau 5 p. 100 de signification dans 80 p. 100 des cas (P = 0,8).

Pour mettre en évidence une différence de 12 p. 100, il fallait en 1972, 6 répétitions de parcelles comportant 6 unités de base alors qu'en 1974, 4 répétitions avec des parcelles de même surface ou 6 répétitions avec des parcelles comportant 2 unités de base étaient suffisantes. Cette différence entre les deux années est due principalement aux différences entre les coefficients de variation pour les parcelles unitaires.

Il est intéressant de constater que le nombre des répétitions a un effet beaucoup plus marqué sur la précision de l'essai que l'accroissement de la surface parcellaire. Chaque année, le passage d'une surface de parcelle de 5 à 10 unités réduit en moyenne la différence détectée seulement de 1,6 p. 100. Le progrès est plus important pour le passage de 5 unités à 12 unités ou davantage mais ce progrès de précision est annulé par les inconvénients évidents que présentent les très grandes parcelles.

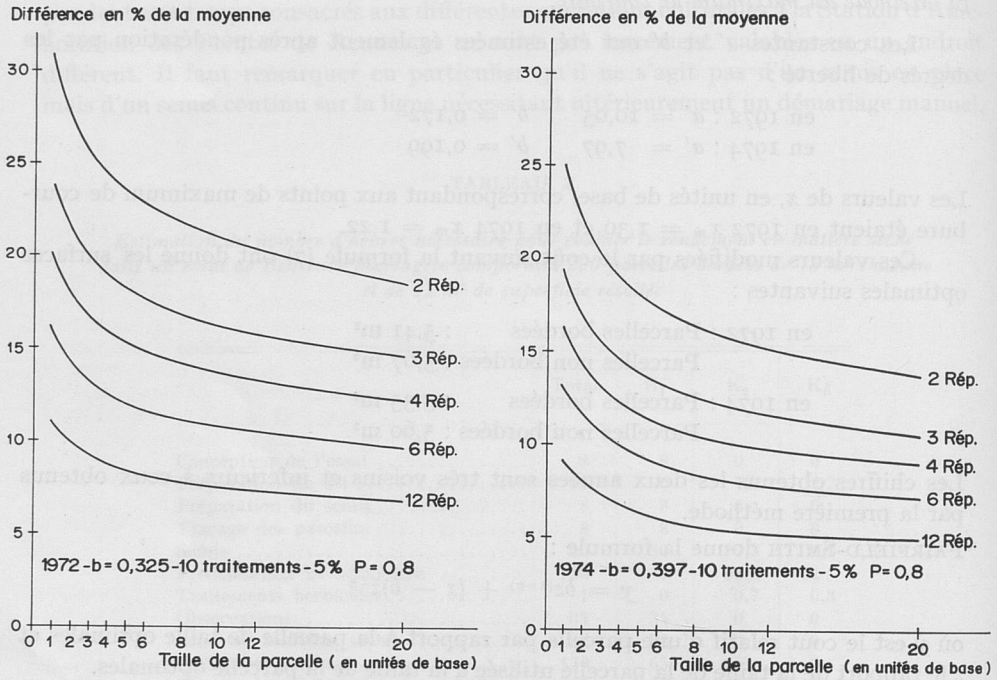


FIG. 1. — *Relation entre la vraie différence, la taille des parcelles et le nombre des répétitions pour le poids des racines en 1972 et en 1974*

Il semble donc que pour un nombre constant de répétitions, la précision attendue est peu améliorée en utilisant des parcelles dont la surface est supérieure à 5 unités soit 8,40 m² en 1972 et 8,75 m² en 1974.

3. — *Détermination de la forme optimale des parcelles*

Les variances V*x* correspondant à des parcelles de même surface mais de formes différentes ont été comparées à l'aide d'un test F, le nombre des degrés de liberté étant égal au nombre de parcelles comprises dans l'essai moins un.

Les parcelles longues et étroites ont une variance généralement inférieure à celle des parcelles larges (tabl. 1). En 1972 et 1974, pour les parcelles de 6 unités de base la différence est significative entre parcelles de forme à peu près carrée (1 × 6) et parcelles très longues et étroites (6 × 1).

La disposition de l'essai en 6 bandes de 120 parcelles unitaires n'a pas permis d'analyser toutes les combinaisons correspondant à 4 et 5 unités de base, surfaces

considérées comme proches de l'optimum d'après les méthodes d'analyse ci-dessus. FAIRFIELD-SMITH indique que dans les essais d'uniformité le nombre des unités dans chaque direction doit être de préférence un multiple de 12 et que les analyses pour la forme des parcelles sont simplifiées si l'unité de base est carrée. Cependant, dans le cas de plantes sarclées comme la Betterave, cette dernière condition aurait compliqué le travail de récolte et il n'aurait pu être donné de résultats pour les parcelles comportant un seul rang, cas pourtant intéressant.

L'effet comparé des dispositions (1 × 4) et (4 × 1) puis (1 × 5) et (5 × 1) a été étudié chaque année en utilisant la plus grande partie possible de la surface de l'essai. Pour les parcelles de 4 unités on a tenu compte de 4 bandes sur les 6 que comportait l'essai (3 possibilités) et pour les parcelles de 5 unités de 5 bandes sur 6 (2 possibilités). Dans les 10 arrangements possibles pour les deux années la variance la plus faible est celle qui correspond aux parcelles longues et étroites et les différences sont significatives ou très significatives dans 5 arrangements sur 10.

En définitive, pour réduire la variance entre parcelles, il est préférable d'utiliser des parcelles d'un rang disposées parallèlement au sens des plus grandes variations de fertilité. Mais le sens de ces variations n'est généralement pas connu. On sait seulement que les travaux agricoles créent chaque année une irrégularité par le passage des tracteurs, l'épandage des engrais ou des pesticides, etc.

Pratiquement, il semble difficile de limiter la parcelle à un seul rang pour diverses raisons (influence des plantes manquantes sur les parcelles voisines, effet de compétition entre variétés, effets de bordure dans les essais de fertilisation par exemple), et la meilleure solution serait de récolter le rang central d'une parcelle comportant trois rangs. L'inconvénient de cette méthode est de tripler la surface de l'essai par rapport à la surface récoltable et d'augmenter dans la même proportion la quantité de graines nécessaire pour chaque variété. Un compromis consisterait à séparer chaque parcelle monorang, par un rang semé avec une bonne variété commerciale. Dans un autre domaine, des parcelles très allongées peuvent être gênantes pour réaliser des traitements herbicides ou antiparasitaires. Ces considérations étant faites il semble opportun d'allonger les parcelles dans la mesure du possible. Cette conclusion est en contradiction avec les résultats de MERCER et HALL selon lesquels, pour la Betterave fourragère, les parcelles longues et étroites ne sont pas supérieures aux parcelles carrées.

4. — *Efficacité du dispositif expérimental en blocs de Fisher*

L'efficacité du dispositif en blocs de Fisher est la réduction de la variance de l'erreur due à un arrangement des parcelles en blocs. Elle est mesurée par le rapport de la variance de l'erreur pour une disposition au hasard des parcelles sur le terrain à la variance de l'erreur obtenue après avoir éliminé l'effet dû aux blocs.

L'efficacité des blocs a été calculée chaque année pour des parcelles non bordées de 5 unités de base (5 rangs d'une unité de longueur) pour 3 et 6 répétitions, les parcelles d'un bloc étant disposées côte à côte sur 1, 2, 3 ou 6 bandes afin d'étudier l'influence de la forme du bloc sur l'efficacité (tabl. 3).

En 1972, la forme du bloc a eu peu d'influence sur l'efficacité du dispositif. Cela est dû au fait que cette année-là les rangs se sont trouvés disposés parallèlement au sens de plus grande variation de fertilité du terrain.

En 1974, par contre, année où l'on n'a pas constaté de sens bien défini de variation de la fertilité, les blocs de forme carrée sont plus efficaces que les blocs allongés.

TABLEAU 3

Efficacité du dispositif expérimental en blocs de Fisher suivant la forme des blocs en 1972 et en 1974

Nombre des répétitions	Dimensions des répétitions (m)	Efficacité des blocs	
		1972	1974
3	48 × 8,4	1,48	
	60 × 7,0		1,00
	16 × 25,2	1,14	
	20 × 21,0		1,36
6	48 × 4,2	1,56	
	60 × 3,5		1,04
	24 × 8,4	1,65	
	30 × 7,0		1,11
	16 × 12,6	1,54	
	15 × 10,5		1,47
	8 × 25,2	1,40	
	10 × 21,0		1,44

III. —DISCUSSION

La moyenne des résultats obtenus par les trois méthodes d'analyse utilisées pour la détermination de la surface optimale des parcelles dans les essais de Betterave fourragère est de 6,76 m² en 1972 et 7,65 m² en 1974 soit 55 à 60 racines récoltables pour un peuplement de 8 racines par mètre carré. Ces chiffres sont très inférieurs à ceux obtenus par IMMER et IMMER et RALEIGH, et qui étaient compris entre 24,2 et 48, 4 m².

Ils sont notablement inférieurs au chiffre de 100 racines habituellement recommandé dans les essais de Betterave à sucre.

Il faut rappeler qu'ils s'entendent pour un peuplement régulier, sans plantes manquantes, et seraient sans doute différents dans le cas de semis en place.

La meilleure formule quant au plan expérimental est de constituer des parcelles d'un seul rang, long de 14 à 15 mètres, disposées côte à côte, dans le sens présumé de la plus grande variation de fertilité en s'efforçant, compte tenu du nombre des traitements, d'aboutir à des blocs de forme proche du carré.

Une critique de fond peut être faite à l'expérimentation décrite ci-dessus : les deux variétés utilisées ne sont pas génétiquement homogènes et il aurait été intéressant d'avoir une idée de la *variation individuelle* du poids des racines. En effet l'utilisa-

sion de parcelles regroupant plusieurs individus fait disparaître la variation entre individus ce qui revient à prendre comme erreur expérimentale une interaction bloc-traitement dont on ignore les composantes. En toute rigueur, l'utilisation de deux variétés différentes, une variété triploïde ayant plus de 6 p. 100 de hors-types et une variété diploïde ne permet pas non plus un rapprochement entre les deux années.

Seul un hybride F_1 obtenu par croisement de deux lignées homozygotes aurait permis d'annuler la part génétique de la variation entre plantes à l'intérieur d'une parcelle mais un tel hybride n'existait pas à l'époque où ont été faits ces essais.

Reçu pour publication en juillet 1975.

SUMMARY

ANALYSIS OF TWO UNIFORMITY TRIALS ON FODDER BEET (*BETA VULGARIS* L.)

The optimum plot area in Fodder beet trials was calculated from the results of two uniformity tests achieved one in 1972 and the other in 1974. It was estimated respectively to 6.76 and 7.65 square meters.

The long and narrow plots are preferable to square-shaped plots and the square-shaped blocks to very long ones.

The increase in the repetition number improves more rapidly the precision than the increase in the plot size.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

FAIRFIELD-SMITH H., 1938. An empirical law describing heterogeneity in the yields of agricultural crops. *J. agric. Sci.*, **28**, 1-23.

FEDERER W. T., 1955. *Experimental design.* MacMillan Ed., New-York, 544 p.

HATHEWAY W. T., 1961. Convenient plot size. *Agron. J.*, **53**, 279-280.

IMMER F. R., 1932. Size and shape of plot in relation to field experiment with sugar beets. *J. agric. Res.*, **44**, 649-668.

IMMER F. R., RALEIGH S. M., 1933. Further studies of size and shape of plot in relation to field experiment with sugar beets. *J. agric. Res.*, **47**, 591-598.

LESSMAN K. J., ATKINS R. E., 1963. Optimum plot size and relative efficiency of lattice designs for grain sorghum yield tests. *Crop Sci.*, **3**, 477-481.

MEIER V. D., LESSMAN K. J., 1971. Estimation of optimum field plot shape and size for testing yield in *Crambe abyssinica* HOCHST. *Crop Sci.*, **11**, 648-650.

MERCER W. B., HALL A. D., 1911. Experimental error in field trials. *J. agric. Sci.*, **4**, 107-127.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (3), 485-491.

LOCALISATION CHROMOSOMIQUE DE I_2 CHEZ LA TOMATE CONTRÔLANT LA RÉSISTANCE AU PATHOTYPE 2 DE *FUSARIUM OXYSPORUM* F. *LYCOPERSICI*

H. LATERROT

Station d'Amélioration des Plantes maraîchères,
Centre de Recherches d'Avignon, I. N. R. A.,
84140 Montfavet

RÉSUMÉ

L'allèle I_2 de résistance au pathotype 2 de *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* a été localisé sur le même chromosome 11 que l'allèle *I* de résistance au pathotype 1. Les gènes *a* et *hl* ont été utilisés pour la localisation et la séquence suivante a été déterminée : *hl-a-*I_2.

INTRODUCTION

La Fusariose de la Tomate est une maladie redoutable dans de nombreux pays. Le pathotype 1 est récemment apparu en France et le pathotype 2 est maintenant fréquemment isolé dans des pays voisins.

Les variétés possédant l'allèle dominant *I*, efficace envers le pathotype 1 de *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* (FOL 1), sont nombreuses. Il existe encore peu de variétés possédant l'allèle dominant I_2 de résistance au pathotype 2 (FOL 2), telles « Walter » et « Florida MH 1 ». On ne connaît pas de lignée résistante au pathotype 2 qui soit sensible au pathotype 1 et malgré les travaux de Stall et Walter (1965) et Cirulli et Alexander (1966) on ne peut actuellement trancher entre les hypothèses suivantes :

— l'allèle I_2 est-il efficace envers les 2 pathotypes ?
— les loci *I* et I_2 sont-ils très fortement liés?

Certaines anomalies rencontrées dans nos programmes de sélection nous ont entraînés dans une tentative de localisation du locus I_2. Par exemple, nous avons

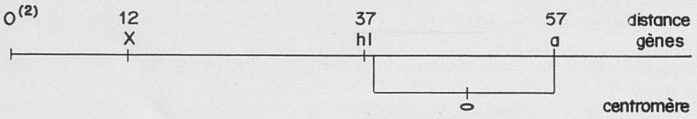
déjà signalé l'échec rencontré dans les programmes de création d'une « Marmande I_2 » (LATERROT, 1972). Il fut impossible de réunir les caractères « résistance au FOL 2» et « fruit fascié », conséquence probable d'un linkage entre les loci I_2 et *f* (fasciated fruit). Ce dernier allèle est localisé sur le chromosome 11.

Le locus *I* a été localisé sur le chromosome 11. On sait que l'existence d'un caractère gamétophytique (*X* = gametophytic factor) complique les travaux de localisation sur ce chromosome 11.

Le mode d'action de *X* a été récemment étudié (ALEXANDER, 1973) : *X* est un facteur microgamétophytique dominant qui opère seulement chez l'individu X/X^+. L'allèle *X* cause l'avortement de la plupart des microgamètes porteurs de X^+ (1).

Il en résulte des anomalies de disjonction de plusieurs gènes situés sur le même chromosome, tels *I*, *j* (jointless, absence de la zone d'abscission sur le pédoncule), *hl* (hairless, absence de poils longs sur tige et feuilles) *a* (anthocyaninless, absence d'anthocyane sur tige et feuilles).

La localisation de *X*, *hl* et *a* sur le chromosome 11 est la suivante selon la carte chromosomique parue dans Report of Tomato Genetics Cooperative (1973).



ALEXANDER (1972) rapporte un ordre analogue des loci mais avec des distances différentes entre *X* et *hl* et *X* et *a* : 18 et 31 respectivement, soit 13 entre *hl* et *a*.

La localisation de *I* n'est pas très précise, elle varie selon les auteurs entre 46 et 52 (HONMA et VRIESENGA, 1971).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous avons étudié les disjonctions de I_2 en relation avec *a* et *hl*. Les essais ont été réalisés en infection artificielle avec un isolat du pathotype 2 selon une méthode déjà décrite (LATERROT, 1972 *a*) et le matériel végétal suivant :

« Monita » : lignée INRA du type « Moneymaker », témoin de sensibilité aux 2 pathotypes du parasite.

« Mobox » : lignée INRA du type « Moneymaker », fixée pour I_2, obtenue après 5 recroisements de la F_1 « Walter 742-$\overline{R}$1-3-3- Bk. CAStMWd × Monalbo » par « Monalbo ».

« Primabel *a* » : radiomutant obtenu au CEA de Cadarache. Nous avons montré qu'il s'agissait d'une réapparition de *a*, en réalisant un test d'allélisme avec « LA 798 ».

« LA 784 » et « LA 798 » : testeurs reçus de RICK, porteurs de *a* et *hl*.

Nous avons étudié les disjonctions obtenues dans les 3 F_2 suivantes : « Mobox × Primabel *a* » (essais 1 et 2), « LA 784 × Mobox » (essai 3) et « Mobox × LA 798 » (essai 4).

(1) Pour tenir compte des règles de Tomato Genetics Cooperative nous remplaçons ici le symbole *x* utilisé par ALEXANDER par le symbole X^+.

(2) Le point o correspond au locus *Cf3* par rapport auquel ont été calculées les distances indiquées.

RÉSULTATS

Essai 1.

Étude de la F_2 « Mobox × Primabel *a* »

— disjonctions observées pour *a*, sur 530 plantes :

[*a*] = 31 plantes, soit 5,8 p. 100 du total
[a^+] = 499 plantes, soit 94, 2 p. 100 du total

— disjonctions observées pour I_2 (dans chaque phénotype) (tabl. 1).

Essai 2.

Seconde étude de la F_2 « Mobox × Primabel *a* »

— disjonctions observées pour *a*, sur 492 plantes :

[*a*] = 28 plantes soit 5,7 p. 100 du total
[a^+] = 466 plantes soit 94,3 p. 100 du total

— disjonctions observées pour I_2 (dans chaque phénotype) (tabl. 1).

TABLEAU I

Disjonction de la F_2 « Mobox × Primabel *a* » *dans les phénotypes* [*a*] *et* [a^+], *après inoculation d'un isolat de pathotype 2.* (2 essais successifs)

Lots étudiés	Nombre de plantes				Pourcentage de plantes saines
	total	mortes	noires	saines	
Essai 1					
Témoins :					
« Primabel *a* »	40	23	15	2	5
« Mobox »	39	0	0	39	100
F_1 « Mobox × Primabel *a* »	50	0	8	42	84
F_2 « Mobox × Primabel *a* » :					
[*a*]	31	18	5	8	26
[a^+]	100	5	14	81	81
Essai 2					
Témoins :					
« Primabel *a* »	30	27	3	0	0
« Mobox »	30	0	0	30	100
F_1 « Mobox × Primabel *a* »	30	0	5	25	83
F_2 « Mobox × Primabel *a* » :					
[*a*]	26	11	7	8	31
[a^+]	30	1	5	24	80

Essai 3.

Étude de la F_2 « LA 784 × Mobox »

— disjonctions observées pour *a* et *hl* :
semis de 2 000 graines : 1 982 plantes observées

nombre de plantules :

$[a \ hl \ ] = 90$ soit 4,5 p. 100 du total
$[a \ hl^+] = 163$ soit 8,2 p. 100 du total
$[a^+ \ hl \ ] = 41$ soit 2,1 p. 100 du total
$[a^+ \ hl^+] = 1\,688$ soit 85,2 p. 100 du total

soit en regoupant :

$[a] = 253$ soit 12,7 p. 100 du total
$[hl] = 131$ soit 6,6 p. 100 du total

— disjonctions observées pour I_2 (dans chaque phénotype) (tabl. 2).

TABLEAU 2

Disjonction des F_2 « LA 784 × Mobox » (essai 3) *et* F_2 « Mobox × LA 798 » (essai 4) *dans chacun des 4 phénotypes intéressant a et hl, après inoculation d'un isolat de pathotype 2*

Lots étudiés	Nombre de plantes				Pourcentage de plantes saines
	total	mortes	noires	saines	
Essai 3					
Témoins :					
« Monita »	60	38	12	10	17
« Mobox »	60	0	0	60	100
« LA 784 »	60	46	7	7	12
F_1 « LA 784 × Mobox »	6	0	0	6	100
F_2 « LA 784 × Mobox » :					
[*a hl*]	53	20	7	25	47
[*a hl*$^+$]	110	67	13	30	27
[*a*$^+$ *hl*]	26	1	0	25	96
[*a*$^+$ *hl*$^+$]	100	10	14	76	76
Essai 4					
Témoins :					
« Primabel *a* »	30	27	3	0	0
« Mobox »	30	0	0	30	100
F_1 « Mobox × Primabel *a* »	30	0	5	25	83
F_2 « Mobox × LA 798 » :					
[*a hl*]	43	9	17	17	40
[*a hl*$^+$]	40	23	10	7	18
[*a*$^+$ *hl*]	12	2	1	9	75
[*a*$^+$ *hl*$^+$]	80	7	11	62	78

Essai 4.

Étude de la F_2 « Mobox × LA 798 »

— disjonctions observées pour *a* et *hl* :
semis de 600 graines, 590 plantes observées.

nombre de plantules :

$[a \quad hl] = 48$ soit 8,1 p. 100 du total
$[a \quad hl^+] = 46$ soit 7,8 p. 100 du total
$[a^+ \; hl \;] = 12$ soit 2,0 p. 100 du total
$[a^+ \; hl^+] = 484$ soit 82,0 p. 100 du total

soit en regroupant :

$[a] = 94$ soit 15,9 p. 100 du total
$[hl] = 60$ soit 10,1 p. 100 du total

— disjonctions observées pour I_2 (dans chaque phénotype) (tabl. 2).

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

L'examen des résultats des essais 1 et 2, qui sont en excellente concordance, montre que le phénotype [*a*] apparaît dans des proportions très inférieures à 25 p. 100. Il en est de même pour [*hl*] et de nouveau pour [*a*] dans les essais 3 et 4. Ceci peut s'interpréter par la présence de *X* lié à I_2 chez « Mobox ». Cependant, on constate une différence du taux d'apparition de [*a*] entre, d'une part les essais 1 et 2 où il est de 5,8 et 5,7 p. 100 et, les essais 3 et 4 d'autre part, où il est de 12,7 et 15,9. ALEXANDER (1972) rapporte un taux moyen de 14,01 pour 4 F_2 différentes où les taux extrêmes vont de 8,85 à 17,07. En ce qui concerne [*hl*] nous trouvons 6,6 et 10,1 ce qui est en accord avec le taux moyen observé par ALEXANDER (1972) de 8,13 pour 6 F_2, où les extrêmes vont de 3,27 à 12,28.

La fréquence d'apparition du phénotype [*hl*] observée dans les essais 3 et 4 est inférieure à celle du phénotype [*a*], ceci est en accord avec l'ordre suivant des loci sur le chromosome 11 : *X-hl-a*

Les disjonctions observées pour la résistance au Fusarium pathotype 2 dans les essais 1 et 2 montrent un déficit important de plantes résistantes chez les individus [*a*], déficit qui ne se retrouve pas parmi les plantes [a^+]. Il en est de même dans les essais 3 et 4. Ainsi I_2 est localisé sur le chromosome 11.

Les disjonctions dans les essais 3 et 4 montrent que I_2 est moins fréquent chez l'ensemble des plantes [*a*] que chez les plantes [*hl*], 34 p. 100 de plantes saines contre 63 dans l'essai 3, et 29 contre 47 dans l'essai 4, d'après les données extraites du tableau 2.

Ces essais montrent ainsi que la liaison entre I_2 et *a* est plus forte qu'entre I_2 et *hl*.

Il est évident que nos résultats sont entachés d'une certaine erreur puisque nous avons parfois des témoins sensibles sans symptômes et des plantes I_2/I_2^+ avec symptômes. De plus, les calculs de localisation englobent le pourcentage de microgamètes X^+ fonctionnels malgré *X* chez les individus X/X^+ et le pourcentage de

crossing over entre *X* et chacun des deux gènes marqueurs *a* et *hl*. Par suite, la localisation de I_2 calculée ci-dessous est approximative.

En se basant sur la proportion d'individus homozygotes récessifs, c'est-à-dire de plantes sensibles, trouvés pour l'ensemble des plantes [*a*] des F_2 étudiées dans les 4 essais, les pourcentages suivants de recombinaisons entre I_2 et *a* ont été calculés :

Essai 1	14 p. 100
Essai 2	17 —
Essai 3	19 —
Essai 4	16 —
Moyenne	17 —

Les calculs effectués avec l'ensemble des plantes [*hl*] des 2 F_2 où intervient *hl* donnent les pourcentages suivants de recombinaisons entre I_2 et *hl* :

Essai 3	39 p. 100
Essai 4	27 —
Moyenne	33 —

Ainsi le locus I_2 se trouverait à environ 17 UC de *a* et à environ 33 UC de *hl*. Deux interprétations sont possibles, 2 ordres de localisation pouvant être :

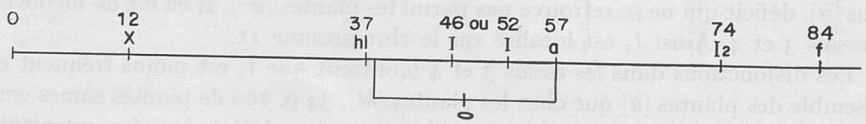
— *hl-a-*I_2 où la distance calculée entre *hl* et *a* est de 16 UC ;
— *hl-*I_2*-a* où la distance calculée entre *hl* et *a* serait de 50 UC.

D'après les résultats des essais 3 et 4, la première interprétation qui place I_2 au-delà de *a* est la plus vraisemblable, ce qui est conforme à la carte rapportée plus haut où *a* et *hl* sont séparés par 20 UC.

A noter que *f* est localisé dans le même secteur, selon la carte parue dans Report of Tomato Genetics Cooperative 1973, il se trouve à 20 UC de *a*. Ces résultats expliqueraient les difficultés rencontrées pour créer une « Marmande » (variété porteuse de *f*) résistante au Fusarium pathotype 2 par l'allèle I_2.

Ainsi en tenant compte des résultats présentés dans la littérature concernant la localisation de *I* et les résultats obtenus dans cette étude, l'ordre des loci sur le chromosome 11 serait le suivant : *hl*, *I*, *a*, I_2.

La situation de I_2 sur le chromosome 11 est la suivante en se basant sur les résultats obtenus avec *a*.



La distance entre *I* et I_2 serait assez importante, 22 à 28 UC, par suite si on ne connaît pas de lignée résistante à FOL 2 qui soit sensible à FOL 1 cela serait plutôt dû au fait que I_2 contrôle une résistance envers les 2 pathotypes plutôt qu'à une liaison étroite entre les deux loci.

Reçu pour publication en juillet 1975.

REMERCIEMENTS

Nous sommes particulièrement reconnaissants à M. P. PECAUT pour son aide et son encouragement pour l'interprétation et la présentation des résultats de cette étude et à MM. G. FOUILLOUX et C. M. MESSIAEN pour leur aide lors de la rédaction de cet article.

SUMMARY

MAPPING OF I_2 IN TOMATO, CONTROLLING THE RESISTANCE TO PATHOTYPE 2 OF *FUSARIUM OXYSPORUM* F. *LYCOPERSICI*

The allele I_2 controlling the resistance against the pathotype 2 of *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* is localized on the chromosome 11, The genes *a* and *hl* were used for the mapping programm, the following sequence was determined : *hl*, *a*, I_2.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ALEXANDER M. P., 1972. Inheritance of X locus in tomato. *Indian J. Genet. Plant Breed.*, **32**, 90-98.

ALEXANDER M. P., 1973. Investigation of the mode of action of the X locus in tomato. *Euphytica*, **22**, 344-350.

CIRULLI M., ALEXANDER L. J., 1966. A comparison of pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* and differents sources of resistance in tomato. *Phytopathology*, **56** (11), 1301-1304.

HONMA S., VRIESENGA J. D., 1971. Synthesis of a jointless *Fusarium* resistant strain of tomato by circumvention of the X gametophytic factor. *J. Soc. hortic. Sci.*, **96** (4), 496-497.

LATERROT H., 1972. Recherches sur la résistance aux maladies. *Rapport d'Activité* 1971-1972. *Station d'Amélioration des Plantes maraîchères, I.N.R.A., Avignon-Montfavet*, 102-114.

LATERROT H., 1972 *a*. Sélection de Tomates résistantes à la Fusariose. *Phytopathol. mediterr.*, **11** (3), 154-158.

STALL R. E., WALTER J. M., 1965. Selection and inheritance of resistance in tomato to isolates of races 1 and 2 of the *Fusarium* wilt organism. *Phytopathology*, **55** (11), 1213-1215.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (3), 493.

INFORMATIONS

SYMPOSIUM ANNOUNCEMENT

Title : International Symposium on the Use of Induced Mutations for Improving Disease Resistance in Crop Plants.

Date : 31 January-4February 1977.

Location : Vienna, Austria.

Organized by : Food and Agriculture Organization of the United Nations.
International Atomic Energy Agency.

Address : International Atomic Energy Agency, Kärntner Ring 11, P.O. Box 590, A-1011 Vienna, Austria.
Cable address : INATOM Vienna, Telex No : 12645.

Scientific Secretary : Mr. A. Micke, Joint FAO/IAEA Division of Atomic Energy in Food and Agriculture.

Topics :

a) The need for augmenting germ plasm sources for disease resistance by induction of mutations (gene erosion ; allel erosion ; genetic vulnerability).
b) New concepts in breeding for disease resistance and recent accomplishments in understanding host/pathogen interactions related to mechanisms of resistance.
c) Experimental induction of mutations for disease resistance in plants.
d) Screening techniques for various types of resistance with particular reference to mutagen treated plant material (laboratory versus greenhouse and field conditions ; tools and equipment).
e) Breeding for resistance against vector transmitted disease (mechanisms of resistance, potential of induced mutations to interfere with vectors and/or pathogens).
f) Genetic and physiological studies with induced mutants having altered disease reaction.
g) Induced transfer of resistance genes from alien sources.
h) Use of tracer techniques in research related to breeding for disease resistance.
i) Cross breeding with disease resistant mutants.
j) International co-operation in development and management of disease resistant cultivars.

Participation : Participation in the Symposium whether or not a paper will be presented, must be through nomination by the Government of a Member State of the International Atomic Energy Agency, of the Food and Agriculture Organization of the United Nations, or by an international organization invited to participate.
Participation Forms and Forms for Submission of a Paper — if a paper is submitted — should be sent to the competent official authority (Ministry of Foreign Affairs, National Atomic Energy Authority, National FAO Committee, Ministry of Agriculture) for transmission to the IAEA.
Although no deadline is set for the receipt of official nominations for participation, it is recommended to submit as soon as possible the Participation Form to the official authority of the respective Member State where further information and forms may be obtained.

Deadline for the Submission of Papers : 12 July 1976.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (3), 495.

CONTENTS

H. Feyt, G. Pelletier. — Haploidy and selection. Probabilities evolution of haploid genotypes out of infinite diploid population under selfing and selection cycles..... 365

Ch. Bertin, A. Panouillé, S. Rautou. — Development of varieties of maize-grain with ear prolificacy for wide ecological adaptation..... 387

Yvette Dattée. — Quantitative analysis of self and cross fertility of diploid alfalfa 419

G. Fouilloux. — Bean anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum* sacc. magn.) : new sources of resistance and new pathotypes 443

C. Brian, Micheline Imbernon, J. Guinberteau. — Phenotypical variations in a commercial strain of *Agaricus bisporus* L..... 455

C. Brian, Micheline Imbernon, J. Guinberteau. — Genetics of the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus* L..... 465

F. Le Cochec, P. Soreau. — Analysis of two uniformity trials on Fodder beet (*Beta vulgaris* L.) 473

H. Laterrot. — Mapping of I_2 in Tomato, controlling the resistance to pathotype 2 of *Fusarium oxysporum* F. *lycopersici* 485

Informations 493

Contents, see at the end of the issue

RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Le manuscrit doit être dactylographié sur papier format 21 × 29,7, avec un double interligne, au recto seulement. Chaque page sera numérotée et des feuilles *séparées* seront utilisées pour les références bibliographiques, les tableaux, les légendes des figures et graphiques, etc.

Au début de chaque mémoire, on indiquera : — *le titre du mémoire ;* il ne devra pas comporter d'abréviations ni de formules chimiques (sauf pour les isotopes) ; — *le nom des auteurs,* précédé des initiales du prénom pour les hommes, du prénom complet pour les femmes ; — *le nom des techniciens* ayant collaboré à l'étude relatée, précédé de la mention : avec la collaboration technique de... ; *le nom de l'établissement,* dans lequel ont été effectuées les recherches et son adresse.

Les mémoires seront rédigés, autant que possible, d'après le plan ci-dessous :
a) *résumé* (250 mots max.) suffisamment précis pour que sa lecture renseigne sur la nature du travail et son importance ; b) *introduction* dans laquelle on indique l'objet des recherches entreprises en relation avec les travaux déjà effectués dans le domaine ; c) *techniques expérimentales et matériel utilisé,* en donnant, sous une forme concise, tous les détails nécessaires pour que le lecteur puisse répéter les expériences ; d) *résultats,* à présenter de la manière la plus brève possible ; e) *discussion* et *conclusion ;* f) *titre et résumé* en anglais ou destiné à être traduit en anglais comportant une analyse *complète* de l'article ; g) *remerciements* pour les collaborations, les fonds, les dons... ; h) *références bibliographiques.*

Les travaux originaux en anglais doivent présenter la même composition que les mémoires rédigés en français, mais ils comportent obligatoirement un résumé français *très complet.* Les figures, graphiques, tableaux et photographies seront sous-titrés en français.

Pour les autres documents (notes, mises au point, revues, rapports, etc.), l'auteur devra suivre un plan logique et le mettre en évidence par une titration appropriée.

Les références bibliographiques doivent être citées dans le texte de la manière suivante : (Dupont et Duval, 1954). Lorsque la référence comporte plus de trois auteurs, seul le premier sera mentionné, suivi de *et al.* A la fin de l'article, les références constituant la bibliographie doivent être citées par ordre alphabétique des noms d'auteurs, et par ordre de dates pour un même auteur.

Pour les articles : le (s) nom (s) de (s) auteur (s) suivi (s) des initiales du (des) prénom (s) ; la date de parution de l'article ; le titre de l'article (dans la langue originale pour l'allemand, l'anglais, l'italien, l'espagnol et en français dans tous les autres cas, avec indication entre parenthèses de la langue d'origine, sauf si l'auteur étranger a sous-titré dans l'une des quatre langues mentionnées) : le titre du périodique en abrégé, selon la *World List of Scientific Periodicals,* ou le *Bulletin Signalétique du C. N. R. S. ;* le volume, la première et la dernière page de l'article.

Pour les ouvrages : le nom de l'auteur avec les initiales du prénom ; la date de l'édition ; le titre complet de l'ouvrage dans la langue originale, sans abréviations (pour les langues utilisant des alphabets autres que l'alphabet latin, la traduction du titre sera donnée entre parenthèses, avec mention de la langue d'origine) ; le volume ; la première et la dernière page du paragraphe se rapportant aux résultats discutés, et, si l'on cite l'ouvrage en entier, le nombre de volumes et le nombre total de pages ; le numéro de l'édition s'il y en a plusieurs ; le nom de l'éditeur ; le lieu de l'édition. Si l'ouvrage est collectif, on indiquera en plus le nom de l'auteur du chapitre cité, le nom des rédacteurs principaux, précédé de la mention « in », le titre de l'ouvrage.

La mention de « communications personnelles » ou « données non publiées » etc. doit être faite entre parenthèses. Lorsque l'auteur a relevé une référence dans une revue d'« Abstracts », le mentionner à la fin de la référence, entre parenthèses.

Les tableaux, dessins, graphiques, cartes, photographies, doivent être fournis à part. Les tableaux et figures doivent faire l'objet de deux numérotations distinctes, en chiffres arabes l'une et l'autre.

Les auteurs peuvent disposer leurs tableaux soit dans le sens de la largeur de la revue, soit dans le sens de la longueur. Dans le sens de la largeur, le total des signes et des espaces disponibles est de 100. Dans le sens de la longueur, il est de 155. Les tableaux en longueur, c'est-à-dire ceux pouvant disposer de 155 signes, ne seront admis que s'ils comprennent plus de 8 lignes de chiffres, de manière qu'une page entière de la revue ne soit pas occupée par un tableau très long et très étroit. Les graphiques ne doivent pas faire double emploi avec les tableaux.

Les légendes et les énoncés des graphiques et dessins doivent être dactylographiés sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

Les graphiques, schémas, cartes, dessins d'appareils seront envoyés soit *à l'état définitif* soit *à l'état de projets,* leur exécution définitive étant confiée au Bureau de Dessin de l'I. N. R. A. Seules deux réductions à l'impression sont admises : *soit* × 0,5, *soit* × 0,25.

Il est rappelé que le format utile des *Annales* est : 12,5 × 19 cm ; ces dimensions ne doivent pas être dépassées.

Photographies : Il est recommandé de fournir des épreuves bien contrastées sur papier blanc, et de préférence en format 9 × 12. Si les photographies doivent être associées pour constituer des planches, on adoptera les normes suivantes : 2 photos : 9 × 12 ; 4 photos : 9 × 5,5 ; 6 photos : 5,5 × 5,5. Dans ce cas, chaque photo devra porter un numéro en chiffres arabes visible après clichage.

Les légendes des photographies doivent être dactylographiées sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

Il est demandé d'indiquer sur le manuscrit, dans la marge, en regard du texte, l'emplacement souhaité des tableaux et figures.

Envoi du manuscrit : M. Rives ; Centre de Recherches de Bordeaux, 33140 Pont de la Maye, France. On demande deux exemplaires.

Correction des épreuves : les épreuves que les auteurs recevront à corriger sont à retourner, après correction, à cette même adresse.

Le Directeur de la publication : M.-L. CAGNAC

Imprimerie Bussière à Saint-Amand (Cher), France. — 11-1976

Dépôt légal : 4e trimestre 1976. N° d'impression : 1296

CPPAP n° 26633

annales de l'amélioration des plantes

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE
I. N. R. A.
Centre de Recherches de RENNES
STATION D'AMÉLIORATION DES PLANTES
B.P. 29 - 35650 LE RHEU
Tél. : (99) 00.71.92

Trimestriel

1976

Vol. 26 . N° 4

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

Reproduction, même partielle, interdite sans autorisation des auteurs
et de l'Institut national de la Recherche agronomique
à l'exception des résumés

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (4), 495-516.

CARACTÉRISATION DES CULTIVARS A L'AIDE DE DIFFÉRENCES QUANTITATIVES DE TENEUR EN COMPOSÉS POLYPHÉNOLIQUES : APPLICATION AU MAÏS ET A L'ŒILLET

B. MONTIES, Marie-Thérèse CHESNEAUX* et C. HUTIN*

Laboratoire de Chimie biologique et de Photophysiologie, Institut national agronomique, I. N. R. A., 78850 Thiverval-Grignon

** Groupe d'Étude et de Contrôle des Variétés et des Semences, Groupe des Laboratoires et Services de La Minière, I. N. R. A., 78000 Versailles*

RÉSUMÉ

L'intérêt des méthodes biochimiques quantitatives de caractérisation des variétés, les facteurs analytiques et génétiques ainsi que les particularités propres aux composés polyphénoliques, sont rappelés dans une brève étude bibliographique.

Des différences variétales quantitatives ont été mises en évidence chez le Maïs ; elles portent sur les teneurs totales et les proportions relatives en anthocyanes dans la gaine de la première feuille de plantules âgées de 10 jours. Des différences analogues existent dans les teneurs en flavonoïdes des pétales d'œillets blancs ou rouges.

L'intérêt et les limites de telles caractérisations sont discutés, compte tenu de la variabilité des teneurs parfois observée, même en conditions de culture normalisées.

INTRODUCTION

Les progrès de la sélection végétale, le souci d'une meilleure protection des utilisateurs ont eu pour corollaire le développement, au cours des vingt dernières années, de législations nationales ou d'accords internationaux visant à protéger le travail des obtenteurs, à améliorer le contrôle de la production et de la distribution des semences et plants et à prémunir les acheteurs contre les risques inhérents à la culture de variétés mal adaptées. La Convention internationale de 1961 pour la protection des obtentions végétales, les directives des Communautés européennes relatives à la commercialisation des semences et aux catalogues communs des variétés, les systèmes de l'O.C.D.E. pour la certification variétale des semences destinées au

commerce international sont autant d'exemples qui, à des titres divers, font référence à la notion fondamentale de variété.

Une variété ou cultivar se définit comme une unité biologique distincte, suffisamment homogène et stable, qui doit pouvoir être décrite et reconnue par un caractère ou par un ensemble de caractères. Les caractères utilisés pour l'identification des cultivars sont le plus souvent morphologiques, mais ils peuvent être physiologiques ou biochimiques (McKEE, 1973). Les caractères morphologiques et physiologiques observables sur des plantes placées dans des conditions normales de culture sont quelquefois insuffisants pour distinguer facilement les cultivars ; ils présentent, de plus, le grave inconvénient d'exiger souvent un cycle végétatif complet avant de fournir des résultats. Les efforts actuels portent donc tout naturellement sur l'induction de différences variétales, de préférence au stade jeune, à l'aide de certains facteurs agissant sur la physiologie des plantes (NITTLER, 1973) : facteurs physiques (qualité et quantité d'éclairement, température), facteurs chimiques (nutrition minérale et hydrique ; traitement par des produits chimiques, pesticides, insecticides ou herbicides) ou facteurs biologiques (ablation des tiges primaires, défoliation, induction de maladies ou test de résistance).

Aux variations morphologiques et physiologiques ainsi induites ou préexistantes correspondent des variations plus ou moins marquées des caractéristiques biochimiques ; en outre, de nombreuses autres différences biochimiques peuvent exister, qui ne se traduisent pas nécessairement par une variation morphologique ou physiologique décelable par simple observation visuelle. Comme les données biochimiques sont acquises à partir de méthodes objectives et, en général, quantitatives, on comprend l'intérêt croissant accordé aux techniques biochimiques d'identification des variétés (National Association of Plant Patent Owners, 1975).

Revue bibliographique

De nombreux constituants biochimiques permettent de révéler des différences variétales : citons, par exemple, les globulines (STUCKZINSKI, NALECZYNSKA et STURZYNSKA, 1974) et les gliadines (FEILLET, 1965 ; AUTRAN et BOURDET, 1975) certaines enzymes comme les catalases, les peroxydases, les polyphénoloxydases et les estérases (ALMGARD et NORMAN, 1970 ; FEDAK et RAJMATHY, 1971 ; PASHKAR *et al.*, 1973) ou même des molécules plus complexes, réputées non codées génétiquement, telle la lignine(KUC et NELSON, 1964 ; BOWLING et CROWDEN 1973 ; PASHKAR *et al.* 1973 ; GORDON, 1974). Les méthodes actuelles d'isolement et de dosage de certaines de ces macromolécules sont longues et délicates, ce qui rend encore difficile leur utilisation pratique à grande échelle pour distinguer les variétés. Les progrés analytiques sont donc déterminants en ce domaine ; c'est, par exemple, le cas pour les polyphénols-tanins de la Luzerne (SARKAR et HOWARTH, 1976) ou de la Féverole (PICARD, 1976).

Par contre, les composés biochimiques simples, de faible poids moléculaire, aisément séparables par chromatographie, sont largement utilisés. Les métabolites secondaires, plus spécifiques, sont *a priori* plus favorables à la mise en évidence de différences variétales ; c'est le cas, notamment, des polyphénols, des alcaloïdes et des terpènes (ALSTON, MABRY et TURWER, 1963). Mais on peut également recourir à des métabolites primaires ; ROWLAND et CORNER (1963) ont observé des différences

variétales de concentration pour plusieurs acides aminés dans les fleurs de fève.

De tous ces composés, les polyphénols sont, de loin, les plus utilisés ; les anthocyanes, surtout, ont retenu l'attention en raison des colorations rouges résultant de leur présence. Dès 1947, BLANK signale l'intérêt de ces pigments pour identifier les cultivars chez de nombreuses espèces. Depuis, de nombreux auteurs ont cherché à caractériser des variétés, souvent voisines morphologiquement ou physiologiquement, en mettant à profit les différences de composition de leurs équipements polyphénoliques. McKEE (1973) et GRANT (1973) citent près d'une vingtaine d'exemples. Chez le Riz, on peut reconnaître une série de cultivars par les teneurs absolues et relatives des becs de glumelle en différents polyosides de la cyanidine (MIZUSHIMA, KONDO et KONNO, 1963). En 1968, VOGEL montre qu'il est possible de distinguer deux variétés de pomme de terre par le mode de glycosidation des anthocyanes de la peau des tubercules, bien que l'équipement anthocyanique des germes soit identique. En 1971, ce même auteur établit que les cultivars de pomme de terre peuvent être classés en plusieurs groupes d'après la nature de l'anthocyane synthétisée dans les germes, cyanidine, pélargonidine ou paenonidine, le mode de glycosidation de ces anthocyanes ne variant pas. Ces exemples illustrent la diversité des variations qualitatives et quantitatives observables au sein d'une même espèce végétale.

Quant aux autres types de polyphénols (dérivés d'acides hydroxycinnamiques et flavonosides), ils sont souvent caractéristiques de certaines familles ou espèces végétales (HARBONE, 1973) ; il en va d'ailleurs de même pour les anthocyanes, dans certains cas : plusieurs espèces de vigne et leurs hybrides peuvent être distingués par le mode de glycosidation de leurs anthocyanes (RIBEREAU-GAYON, 1968 ; ANDERSON *et al.*, 1970).

Plusieurs facteurs peuvent être considérés comme responsables de cette convergence d'intérêt pour les polyphénols :

— ils peuvent être extraits de manière simple en solution et être dosés globalement par spectrophométrie,

— les progrès réalisés dans les méthodes de séparation — chromatographie sur papier, puis sur couche mince de cellulose, à la fois plus rapide, plus sensible et plus reproductible — permettent d'isoler facilement les principaux d'entre eux,

— un grand nombre de réactions colorées sensibles, souvent réversibles, peuvent être utilisées en combinaison pour caractériser en groupe les principaux types de polyphénols (SMITH, 1960 ; SEIKEL, 1964) ; ces réactions peuvent être utilisées après analyse chromatographique ainsi qu'au cours d'études par spectrophotométrie en lumière visible ou ultraviolette.

A ces facteurs analytiques favorables s'ajoute la diversité remarquable des polyphénols : 600 au moins ont été caractérisés dans le seul groupe des flavonoïdes (HARBORNE, 1972). De plus, les équipements polyphénoliques des différents organes et tissus d'une même plante sont parfois très différents, ce qui augmente les chances de trouver des différences variétales. Enfin, la diversité des polyphénols au sein d'une espèce n'apparaît pas, dans l'ensemble, sensiblement réduite par une sélection sévère pour d'autres caractéristiques : chez les mutants chlorophylliens d'Orge, on a constaté que les groupes définis au moyen des polyphénols ne se superposent avec aucun des groupes de mutants *chlorina*, *viridis* et *xantha*, mais seulement avec le groupe *albina* (HOLM et FROST, 1972).

Si les différences qualitatives entre variétés ont surtout retenu l'attention des chercheurs, quelques auteurs ont signalé l'existence de différences quantitatives à caractère variétal dans l'équipement polyphénolique du Riz, du Haricot, de la Fève, du Pois, du Blé, du Maïs et de la Pomme de terre (MIZUSHIMA *et al.*, 1963 ; ROWLAND et CORNER, 1963 ; BROWN *et al.*, 1971 ; DEDIO *et al.*, 1972 ; VOGEL, 1970 ; PASHKAR *et al.*, 1973). Mais ces résultats ont presque toujours été obtenus par simple comparaison visuelle des taches correspondant à certains polyphénols sur les chromatogrammes. Une telle comparaison est évidemment difficile à normaliser pour une utilisation systématique en analyses de routine.

TRAVAUX EXPÉRIMENTAUX

Compte tenu de ce qui précède, nous avons donc essayé de vérifier s'il est possible de distinguer certains cultivars par des variations quantitatives de leur équipement polyphénolique ; les recherches ont été faites sur des feuilles de jeunes plantules de Maïs et sur des pétales d'œillets blancs et rouges.

Les principaux flavonoïdes et anthocyanes présents dans les feuilles de Maïs et les pétales d'Œillet ont été caractérisés respectivement par STYLES et CEŠKA (1972), et par DOMMERGUES, GILLOT et MARTIN (1966) ; nous n'avons pas, dans un premier temps, essayé d'identifier les pigments polyphénoliques que nous avons séparés. Par contre, nous avons tenté de les doser, soit en solution, par spectrophotométrie, soit directement par réflectométrie sur couche mince dans l'ultraviolet selon une technique nouvelle (MONTIES, 1973, 1975 *a*, *b*).

MÉTHODES ET TECHNIQUES

a) *Méthode d'extraction*

Après pesée des tissus prélevés, ceux-ci sont découpés en fragments de 5 mm de long environ, plongés dans du méthanol additionné de 1 p. 100 d'acide chlorhydrique et broyés rapidement à l'aide d'un Omni Mixer Sorvali. Le poids des échantillons est compris entre 0,5 et 2 g de matière fraîche pour 15 ml de méthanol chlorhydrique. Le broyage est effectué dans un pot en acier de 50 ml, placé dans un réfrigérant. Le broyage est réalisé par périodes de 30 secondes à la vitesse maximum alternant avec des arrêts de 1 minute pour le refroidissement ; trois broyages successifs suffisent, en général, pour que l'extraction soit totale. Les débris de tissus sont éliminés par centrifugation (48 000 g, 10 minutes, 4°C et les culots sont éventuellement lavés. Le surnageant récupéré est ajusté à 25 ml ou à un volume proportionnel au poids de matière fraîche (à raison de 30 ml par gramme de matière fraîche : Mf).

b) *Dosage spectrophotométrique*

Les spectres d'absorption sont enregistrés entre 300 et 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre Beckman DK 2A. Les densités optiques (Ac) sont mesurées au maximum d'absorption.

c) *Séparation chromatographique*

Les séparations sont faites sur plaques de cellulose MN 300, épaisses de 0,75 mm ; quatre plaques sont préparées à partir de 21 grammes de cellulose homogénéisés pendant 1 minute dans 135 ml d'eau à la vitesse maximum du broyeur Sorvall. Après séchage à l'air pendant 30 minutes, puis à l'étuve ventilée à 110°C pendant 1 heure, les plaques sont conservées à l'abri de la poussière.

Le chargement est effectué à l'aide d'une microseringue Hamilton équipée d'un Repeating Dispenser.

Les extraits méthanoliques sont d'abord concentrés dans un évaporateur rotatif jusqu'à 2 ml environ ; ils sont ensuite amenés juste à sec dans un tube à essai au bain-marie (40°C) et sous jet d'azote « R » puis repris immédiatement dans 1 cm^3 de méthanol, ou dans un volume proportionnel à la masse de l'échantillon (1 ml/g de Mf). Dix microlitres environ de cet extrait concentré déposés sous forme d'un trait de 8 à 10 mm, constituent la charge des chromatogrammes.

Le solvant AHW (proportions en volume : acide acétique glacial : 25, acide chlorhydrique : 3, eau : 72), proposé par Anderson *et al.* (1970) pour séparer les différents groupes de polyphénols, a été utilisé en tirant parti des avantages de la techniques des migrations successives discutée par ailleurs (Monties, 1975 *a*).

Pour révéler les polyphénols, on a utilisé, de préférence, le réactif de Neu, acide diphénylborique-β-aminoéthylester (Fluka ou Sigma) ; les couleurs des taches sont représentées dans les figures selon le code proposé par Nybom (1967).

d) *Dosage densitométrique sur couche mince*

Le principe des dosages réflectométriques a été décrit par ailleurs (Monties, 1973, 1975 *b*), ainsi que le détail de la procédure (Monties, 1975 *a*).

Dans nos expériences, les conditions d'utilisation du densitomètre Vitatron TLD 100 étaient les suivantes :

1. Réflectométrie : Source : lampe Hg ; filtre : UVB sur le faisceau incident ; mode : lin — I ; span : 10 en général ;
2. Fluorimétrie : Source : lampe Hg ; filtre : UVB sur le faisceau incident, filtre interférentiel 452 nm sur le faisceau réémis ; mode : lin + II ; span : 9 en général ;
3. Transmission : Source : lampe Tu ; filtre : 515 nm sur le faisceau transmis ; mode log —; span : 7 en général.

Dans tous les cas, vitesse d'enregistrement de 6 cm par minute et vitesse de balayage de 20 cm par minute, les autres réglages étant choisis pour que le plus grand des pics couvre 80 à 90 p. 100 de largeur des enregistrements.

CONCLUSION

Résultats

Toutes les séries d'expériences ont été répétées deux fois au moins ; la dispersion des résultats a été précisée par calcul des moyennes (m) et de leur écart-type (σ).

A. — *Maïs*

I. *Matériel végétal et conditions de culture.*

Quatre cultivars ont été utilisés, choisis en fonction de l'intensité de la pigmentation anthocyanique de la gaine de la première feuille ; pour disposer d'un matériel aussi homogène que possible génétiquement, on a retenu deux lignées inbred et deux hybrides simples, désignés respectivement dans la suite par les lettres A, B, C et D :

Cultivar	Intensité de la pigmentation anthocyanique
A (W 401)	très forte
B (F 115)	moyenne
C (W 325 A × F 101)	moyenne
D (WH × WJ)	très faible

Ni l'intensité, ni la nuance de leur coloration ne permettent de distinguer avec certitude les variétés B et C à l'œil nu.

Les graines sont semées en ligne, la pointe tournée vers le bas et tous les scutel-

lums orientés dans la même direction, à raison de 10 à 14 graines par cultivar et par essai. Sauf pour l'essai de comparaison de différentes conditions de culture (tabl. 1), les plantules ont été obtenues dans des terrines percées en plastique, sur vermiculite F imbibée d'eau à saturation, soit en serre (température non contrôlée de l'ordre de 20°C, éclairement naturel des mois de septembre et octobre), soit en chambre climatisée (température constante : 22°C ; éclairement de 16 heures par jour : 15 000 lux, par tubes fluorescents « Blanc Super » de 2,40 m, complémentés par des lampes à incandescence sous-voltées ; hygrométrie : 70 p. 100. Les prélèvements ont été effectués 10 jours après le semis.

2. *Essai préliminaire.*

La figure 1 représente les spectres d'absorption des extraits de gaines de premières feuilles des quatre variétés cultivées en serre ; le maximum d'absorption des anthocyanes est situé à la même longueur d'onde pour les quatre extraits. Par la suite, ce résultat a toujours été confirmé, la position du maximum étant située à 527 ± 3 nm.

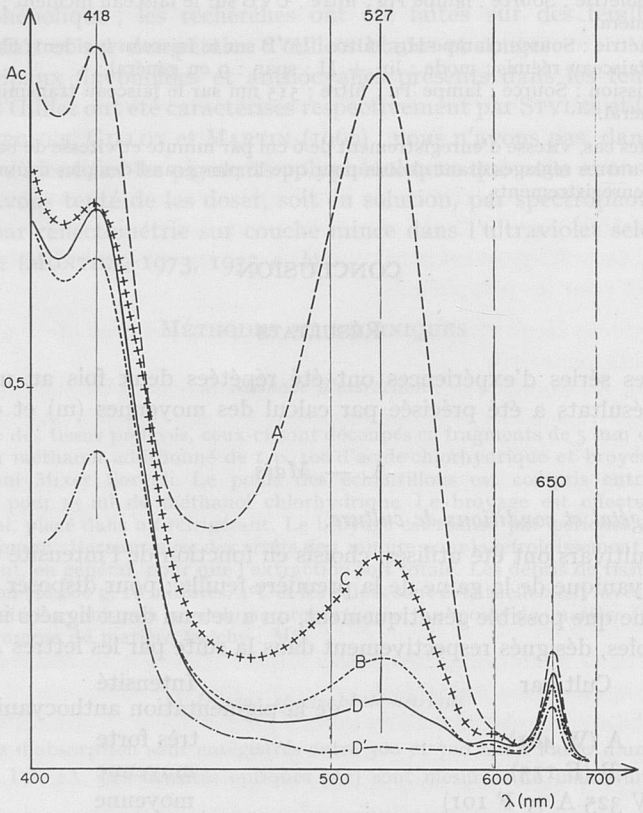


FIG. 1. — *Spectres d'absorption des extraits de gaines de premières feuilles de quatre variétés de Maïs A, B, C et D cultivées en serre.* Extraits de 12 gaines par variété ; l'extrait A est dilué au demi, l'extrait D' correspond à une culture en chambre de germination (voir tabl. 1).

Absorption spectra of the first leaf sheath extracts for the four corn cultivar A, B, C and D grown under greenhouse. Extracts from 12 plantlets of each cultivar ; A extract is diluted to one half, D' extract corresponds to a sample obtained from growing chamber (see tabl. 1).

La courbe D′ correspond à un extrait de la variété D cultivée sur papier plissé, à 20°C, en chambre de germination, avec éclairement de faible intensité (1 000 lux environ), d'une durée de 8 heures par cycle de 24 heures. En comparant les spectres D et D′, on peut vérifier que l'absorption propre des phéophytines perturbe peu les mesures : en effet, les teneurs en chlorophylles des gaines sont faibles et, de plus, l'absorption propre des phéophytines est faible entre 500 et 600 nm. D'après SMITH et BENITEZ (1955), l'absorption propre de la phéophytine *a* vers 530 nm est toujours inférieure au cinquième de son absorption vers 660 nm. Dans la suite, les résultats des dosages d'extraits d'anthocyanes sont exprimés par la valeur de leur absorbance (Ac) à leur maximum d'absorption, corrigée de l'absorption résiduelle des phéophytines, c'est-à-dire en soustrayant conventionnellement de l'absorbance mesurée au maximum d'absorption des anthocyanes 1/5 de l'absorbance mesurée au maximum d'absorption des phéophytines à 660 nm.

Le maximum d'absorption de tous les spectres est situé à la même longueur d'onde ; on peut donc supposer qu'il n'existe pas de différences importantes entre les proportions des divers aglycones d'anthocyanes présents dans les quatre variétés. Par contre, on constate une différence quantitative considérable entre les absorbances, donc entre les teneurs de ces quatre extraits. Ce résultat confirme l'impression visuelle qui a déterminé le choix des variétés, mais permet, en outre, de séparer les deux cultivars B et C d'après l'absorbance des extraits méthanoliques.

3. *Influence des conditions de culture.*

Il est bien établi que les teneurs en pigments des végétaux dépendent de très nombreux facteurs et, notamment, de la lumière (MOHR, DRUMM et KASEMIR, 1974). Nous avons donc cherché à préciser l'influence des conditions de culture sur les teneurs en anthocyanes des quatre cultivars.

Les résultats de ces expériences sont résumés dans le tableau 1. La comparaison des absorbances absolues et relatives montre que les teneurs absolues en anthocyanes des gaines de la première feuille varient beaucoup en fonction des conditions de culture par contre, les teneurs relatives varient peu à partir du moment où un niveau suffisant de production des anthocyanes a été atteint (4 dernières séries de résultats du tableau 1). Réciproquement, lorsque la production d'anthocyanes n'a pas atteint un niveau suffisant, le pouvoir discriminant est réduit ce qui peut entraîner des risques d'erreur de diagnostic : dans les deux premières séries, la variété B ne se distingue pas de la variété D alors que dans la troisième série, cette même variété B est assez voisine de C dont elle ne se distingue pas, rappelons-le, par simple examen visuel.

Inversement, nous avons cherché à évaluer la stabilité des résultats en comparant quatre cultures successives faites dans les conditions normalisées de la chambre de culture, les plantules étant prélevées 10 jours après le semis en vermiculite. Les résultats sont indiqués dans le tableau 2. Les absorbances absolues et relatives des quatre cultivars choisis sont significativement différentes. On peut donc conclure que la teneur relative en anthocyanes, exprimée par l'absorbance relative des extraits, constitue une caractéristique variétale distinctive des quatre variétés étudiées.

Mais il est frappant de constater que, même dans ces conditions normalisées, il existe une variabilité importante des teneurs en anthocyanes. Cette tendance est particulièrement nette chez les cultivars A et B. Nous avons donc comparé plus précisément six cultures en conditions normalisées des seuls cultivars A et B, en semant,

TABLEAU I

Influence des conditions de culture sur la teneur en anthocyanes de la gaine de la première feuille de Maïs

Absorbance (Ac) à 527 nm pour un extrait de 12 gaines dans 25 ml de méthanol à 1 p. 100 d'HCl ; absorbance relative (%) par rapport à la variété A cultivée dans les mêmes conditions

Enceinte	Chambre de germination								Chambre de culture				Serre	
Éclairement	1 000 lux 8 heures par jour								15 000 lux 16 heures par jour				naturel	
Température	20°C								22°C				environ 20°C	
Substrat	papier plissé		sable		papier plissé		sable		vermiculite				vermiculite	
Age des plantules (jours)	8		8		15		15		8		10		15	
Variété	Ac	%	Ac	%	Ac	%	Ac	%	Ac	%	Ac	%	Ac	%
A	0,43	100	0,33	100	0,85	100	1,20	100	0,92	100	2,38	100	3,50	100
B	Nd	0	Nd	0	0,36	42	0,23	19	0,16	17	0,37	16	0,52	15
C	0,26	60	0,12	36	0,43	51	0,45	38	0,29	32	0,61	26	0,90	26
D	Nd	0	Nd	0	Nd	0	0,07	6	0,06	7	0,12	5	0,25	7

Nd : non détectée, inférieure à 0,05.

TABLEAU 2

Teneur en anthocyanes des gaines de la première feuille de plantules de Maïs cultivées dans des conditions normalisées

Absorbance (Ac) à 527 nm et absorbance relative (%) d'extraits de 13 graines dans du méthanol à 1 p. 100 d'HCl, à raison de 3 ml pour 100 mg de matière fraîche

Cultivar	Poids frais des plantules		Culture								Absorbance	
	Moyenne (g)	Écart-type	1		2		3		4		Moyenne	Écart-type
			Ac	(%)	Ac	(%)	Ac	(%)	Ac	(%)		
A	0,9	0,1	2,52	1 100	1,96	100	1,90	100	1,80	100	2,05	0,32
B	0,5	0,1	0,45	18	0,16	8	0,33	17	0,12	7	0,27	0,15
C	0,9	0,2	0,54	21	0,60	31	0,44	23	0,44	24	0,51	0,08
D	0,9	0,2	0,14	6	0,08	4	0,14	7	0,10	6	0,12	0,03

TABLEAU 3

Variabilité des teneurs en anthocyanes des gaines de la première feuille de deux variétés de Maïs cultivées en conditions normalisées

Cultivar	Répétition	Nombre de plantules obtenues et analysées à partir de 12 graines	Poids frais (g)	Absorbance (Ac)
A	1	11	0,57	3,75
	2	11	0,65	3,90
	3	12	0,68	4,25
	4	10	0,60	3,10
	5	12	0,66	4,45
	6	12	0,72	3,70
Moyenne		11,3	0,65	3,86
Écart-type		—	0,0543	0,4727
100 σ/m : (1)			8,4 %	12,2 %
B	1	7	0,35	0,30
	2	6	0,37	0,59
	3	7	0,38	0,69
	4	10	0,53	0,55
	5	10	0,54	0,58
	6	7	0,41	0,63
Moyenne		7,8	0,43	0,56
Écart-type		—	0,0837	0,1347
100 σ/m : (1)			19,5 %	24,1 %

(1) Valeur de 100 σ/m observée pour l'absorbance dans l'expérience précédente (tabl. 2).
A = 15,6 %
B = 55,6 %

dans 6 terrines, 12 graines de chaque cultivar et en analysant les plantules obtenues après 10 jours (tabl. 3). Si la variabilité relative (100 σ/m) de A est pratiquement la même que dans l'expérience précédente, par contre, celle de la variété B est moindre. Compte tenu des différences de levée observées, il n'est pas déraisonnable de penser que la variabilité des teneurs en anthocyanes du cultivar B pourrait s'expliquer, en partie au moins, par l'origine des semences et leur mauvaise énergie germinative ou par la présence d'impuretés génétiques non décelables à l'œil dans l'expérience précédente. La dispersion résiduelle des résultats observée en conditions de culture contrôlées pour l'ensemble des cultivars reste, pour l'instant, inexpliquée ; un coefficient de variation (100 σ/m) de l'ordre de 20 p. 100 semble pouvoir être retenu, dans un premier temps, comme base correcte de comparaison en analyse de routine pour juger de la validité d'un essai ou pour apprécier les progrès apportés par une modification des modes opératoires.

4. *Examen des anthocyanes.*

Les résultats précédents nous ont conduits à comparer par chromatographie les différentes anthocyanes présentes dans les extraits de gaines des quatre variétés. Nous avons séparé sur couche mince de cellulose, avec le solvant AHW, cinq taches d'anthocyanes qui paraissent être identiques, après cochromatographie, dans les quatre variétés (fig. 2).

Nous avons également observé, dans ces conditions, la présence, dans les quatre extraits, d'une tache : X : Rf = 0,88 (fig. 2), jaune sous lumière visible et virant réversiblement au gris en présence d'ammoniac. Ce composé, révélé en brun par la lumière ultraviolette (UV 360), reste jaune en présence d'Al Cl_3 ou de réactif de Neu et, dans tous les cas, apparaît ensuite brun sous UV ; il pourrait s'agir d'un dérivé de type 3-desoxyanthocyanoside, dont la présence a été signalée dans les plantules de Maïs (Styles et Ceska, 1972).

Ces premières observations confirment la complexité de l'équipement en anthocyanes des plantules de maïs. De plus, en comparant par cochromatographie les anthocyanes des deux variétés A et B, nous avons constaté que ces deux cultivars contiennent au moins les trois mêmes anthocyanes *a*1, *a*2, *a*3 dans des proportions relatives différentes. Ce dernier résultat a pu être précisé par densitométrie sur couche mince.

Dans un premier temps, nous avons vérifié l'existence d'une relation linéaire, dans la gamme des concentrations des différents extraits, entre la surface des pics d'enregistrement densitométrique par transmission à 515 nm et la quantité d'anthocyanes présente dans les taches. La comparaison des courbes de lecture densitométrique (fig. 2) des taches séparées sur les chromatogrammes des extraits de gaines permet de conclure que :

1. les proportions relatives des pigments *a*1, *a*2 et *a*3 dans A, B, C et D sont toutes différentes,

2. le cultivar D contient principalement des anthocyanes *a*2 et *a*3, très peu de *a*1, mais, par contre une quantité relativement importante du pigment X,

3. les cultivars A, B et C contiennent des quantités voisines du composé X. Ce résultat a été confirmé par densitométrie sur couche mince à 452 nm ; à cette longueur d'onde, la réponse des anthocyanes en transmission est pratiquement nulle et

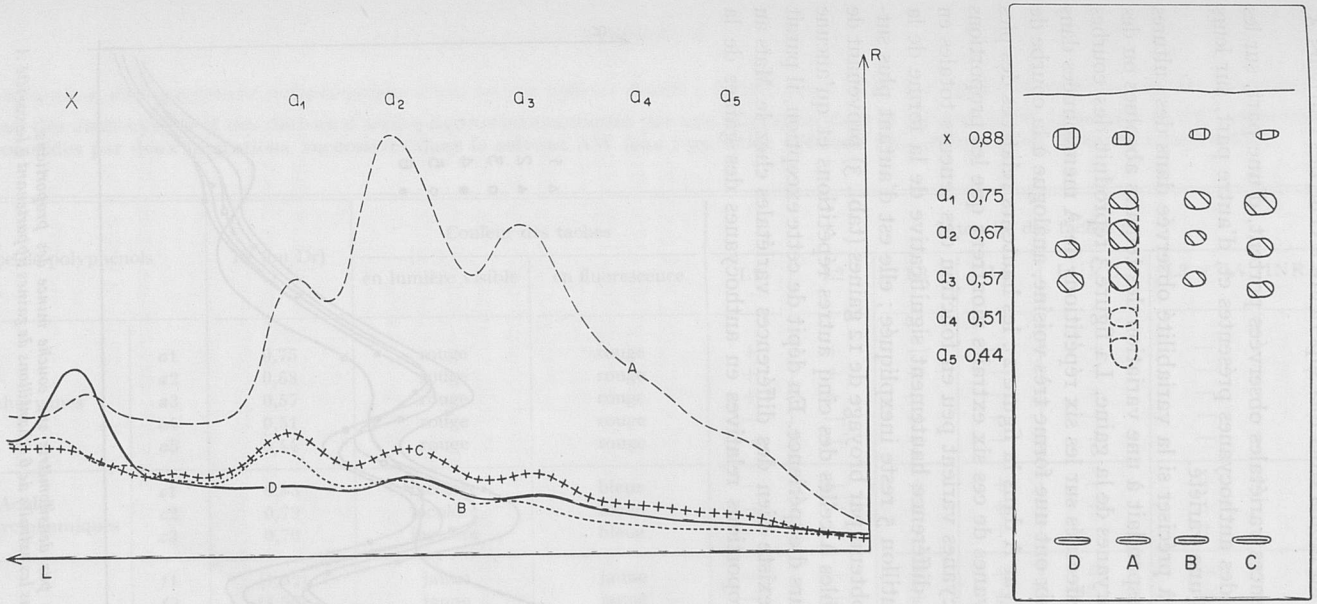


FIG. 2. — *Comparaison par chromatographie sur couche mince de cellulose et dosage densitométrique des anthocyanes présentes dans les gaines de la première feuille de quatre variétés de Maïs.* Les quatre courbes densitométriques correspondent aux quatre chromatogrammes ; la réponse en transmission (R) a été enregistrée dans le sens (L) du développement chromatographique.

——— Variété A
--------- Variété B
+ + + + + Variété C
——————— Variété D

Cellulose thin layer chromatographic comparison and densitometric estimation of the anthocyanins from the firstle af sheath of the four corn cultivar. The four densitometric curves corresponds to the four chromatographic separation ; the transmission (R) was measured in the direction (L) of the chromatographic development.

——— Cultivar A
--------- Cultivar B
+ + + + + Cultivar C
——————— Cultivar D

on peut donc enregistrer plus spécifiquement la réponse correspondant à X : la teneur du cultivar D en X est au moins trois fois supérieure à celle des cultivars A, B et C.

Par conséquent, les différences variétales observées portent, d'une part, sur les quantités absolues de chacune des anthocyanes présentes et, d'autre part, sur leurs proportions relatives au sein d'une variété.

Nous avons donc cherché à préciser si la variabilité observée dans des cultures en conditions normalisées correspondait à une variation des teneurs absolues ou des proportions relatives des anthocyanes de la gaine. La figure 3 reproduit des courbes des dosages densitométriques effectués sur les six répétitions de A mentionnées dans le tableau 3. Cinq courbes sur six ont une forme très voisine, analogue à la courbe de réponse correspondant au cultivar A dans la figure 2 : les hauteurs relatives des pics relatifs aux différentes anthocyanes de ces six extraits montrent que les proportions relatives des différentes anthocyanes varient peu en fonction des teneurs totales en anthocyanes des plantules. La différence hautement significative de la forme de la courbe correspondant à l'échantillon 5 reste inexpliquée ; elle est d'autant plus surprenante que cet extrait a été obtenu par broyage de 12 gaines (tabl. 3) provenant de plantules visuellement semblables à celles des cinq autres répétitions et qu'aucune anomalie n'a été décelée en cours d'expérience. En dépit de cette exception, il paraît raisonnable de conclure qu'il existe bien des différences variétales chez le Maïs au niveau de la teneur et des proportions relatives en anthocyanes des gaines de la première feuille.

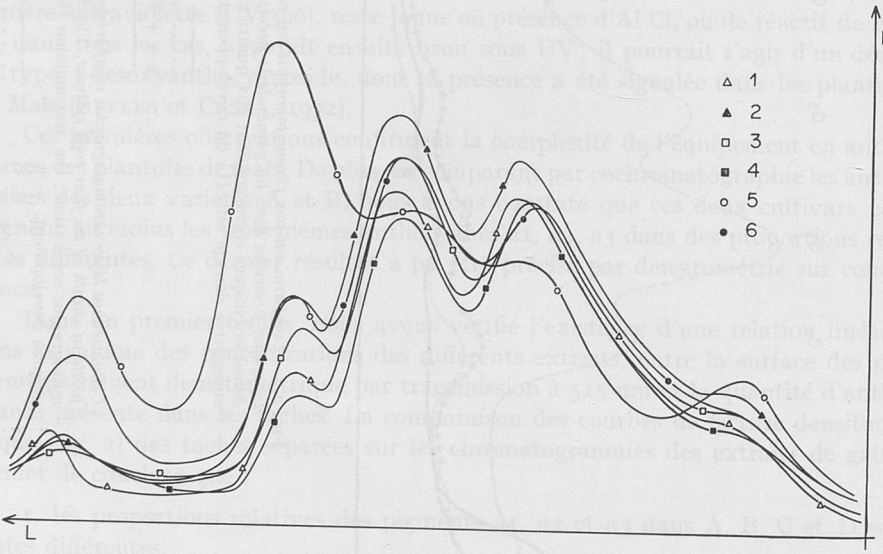


FIG. 3. — *Comparaison par densitométrie sur couche mince des proportions relatives d'anthocyanes présentes dans les extraits de 6 échantillons de gaines appartenant à la variété A*

Cellulose thin layer chromatographic comparison of the relative anthocyanin content of the extracts from six sheath samples from plantlets of the cultivar A

TABLEAU 4

Comparaison de l'équipement polyphénolique d'une variété hybride double « INRA 240 » *et de ses lignées et hybrides simples parentaux*

Séparation des anthocyanes et des dérivés d'acides hydroxycinnamiques par une migration dans le solvant AHW (résultats en Rf) ; séparation des flavonosides par deux migrations successives dans le solvant AW (eau : 95, acide acétique : 5), (résultats en distance relative Dr).

Type de polyphénols		Rf (ou Dr)	Couleur des taches		Intensité des taches (1)						
			en lumière visible	en fluorescence	L1	L2	L3	L4	L1 × L2	L3 × L4	INRA 240
Anthocyanes	*a*1	0,75	rouge	rouge	+	+	—	—	+	—	+
	*a*2	0,68	rouge	rouge	+	+	—	—	+	—	+
	*a*3	0,57	rouge	rouge	+	+	—	—	+	—	+
	*a*4	0,51	rouge	rouge	—	—	—	—	—	—	—
	*a*5	0,44	rouge	rouge	—	—	—	—	+	—	+
Acides hydroxycinnamiques	*c*1	0,83	incolore	bleue	—	—	+	+	—	+	+
	*c*2	0,79	incolore	bleue	—	—	+	+	—	+	+
	*c*3	0,70	incolore	bleue	(—)	(—)	+	+	—	+	+
Flavones	*f*1	(1,32)	jaune	jaune	—	—	+	+	—	—	—
	*f*2	(1,00)	jaune	jaune	—	—	+	+	—	+	+
	*f*3	(0,82)	jaune-orange	orange	+	+	—	—	+	—	+
	*f*4	(0,50)	jaune	jaune	—	—	—	—	—	—	—
	*f*5	(0,37)	jaune-orange	orange	+	+	—	—	+	—	+

(1) + : tache nette ;
— : tache faible ou traces : (—).
L1 = F 107
L2 = F 113
L3 = F 7
L4 = F 2

5. *Examen des autres polyphénols.*

Ce problème a été abordé dans un essai complémentaire portant sur la variété de Maïs *INRA 240* qui est un hybride double, ainsi que sur les lignées et hybrides simples parentaux correspondants. En plus des cinq anthocyanes (*a*1 à *a*5), chromatographiquement identiques à celles observées dans les quatre cultivars précédents, nous avons caractérisé trois dérivés des acides hydroxycinnamiques voisins des acides chlorogéniques (*c*1 à *c*3) et cinq flavonosides (*f*1 à *f*5). Les résultats sont résumés dans le tableau 4, qui montre comme précédemment que les différents cultivars se distinguent aisément par les proportions relatives des différents polyphénols présents dans la gaine de leur première feuille.

On peut d'ailleurs noter l'apparition dans les hybrides de variations quantitatives dans un sens ou dans l'autre, par rapport aux lignées parentales (exemples : *a*5 ou *f*1). L'analyse quantitative proprement dite de ces variations n'a pas encore été faite ; mais, d'ores et déjà, il paraît raisonnable de conclure que ces différents polyphénols constituent des caractères utilisables pour l'identification des cultivars de Maïs.

B. — *Œillet*

La valeur générale de la conclusion précédente a été confirmée par comparaison des équipements polyphénoliques des pétales de différentes variétés d'Œillet.

1. *Matériel végétal.*

Deux variétés à fleurs rouges « Scania » et « Gralored » et deux variétés à fleurs blanches « Grama » et « Starewit » ont été choisies, parce qu'elles présentaient des difficultés d'identification pour les experts du Comité français de la Protection des Obtentions végétales.

Les fleurs produites sous serre de novembre à avril par le Laboratoire d'Amélioration des Plantes florales de l'I.N.R.A., à Saint-Laurent-du-Var, ont été récoltées au stade début de floraison et acheminées par colis express (deux jours à température ambiante et à l'obscurité). Dès réception, les tiges sont plongées pendant quelques heures, jusqu'au niveau des sépales, dans un large volume d'eau. Chaque prélèvement, de l'ordre de 2 g, est constitué de 15 à 20 pétales.

2. *Examen des polyphénols.*

La spectrophotométrie des extraits de pétales par le méthanol chlorhydrique ne révèle pas de différences systématiques d'absorption aux environs de 530 nm pour les œillets rouges ou aux environs de 350 nm pour les œillets blancs. Nous avons donc comparé les polyphénols présents dans ces extraits par chromatographie sur couche mince ; les résultats sont présentés dans la figure 4.

La comparaison des chromatogrammes ne fait pas apparaître de différences qualitatives entre les deux variétés d'œillet blanc, d'une part, ni entre les deux variétés d'œillet rouge, d'autre part.

Cependant, l'examen visuel de la fluorescence sous lumière ultraviolette des flavonoïdes révélés à l'aide du réactif de Neu permet de constater des différences nettes d'intensité de la fluorescence, donc des concentrations relatives des différents flavonoïdes. Nous avons comparé par densitométrie les flavonosides séparés sur couche mince.

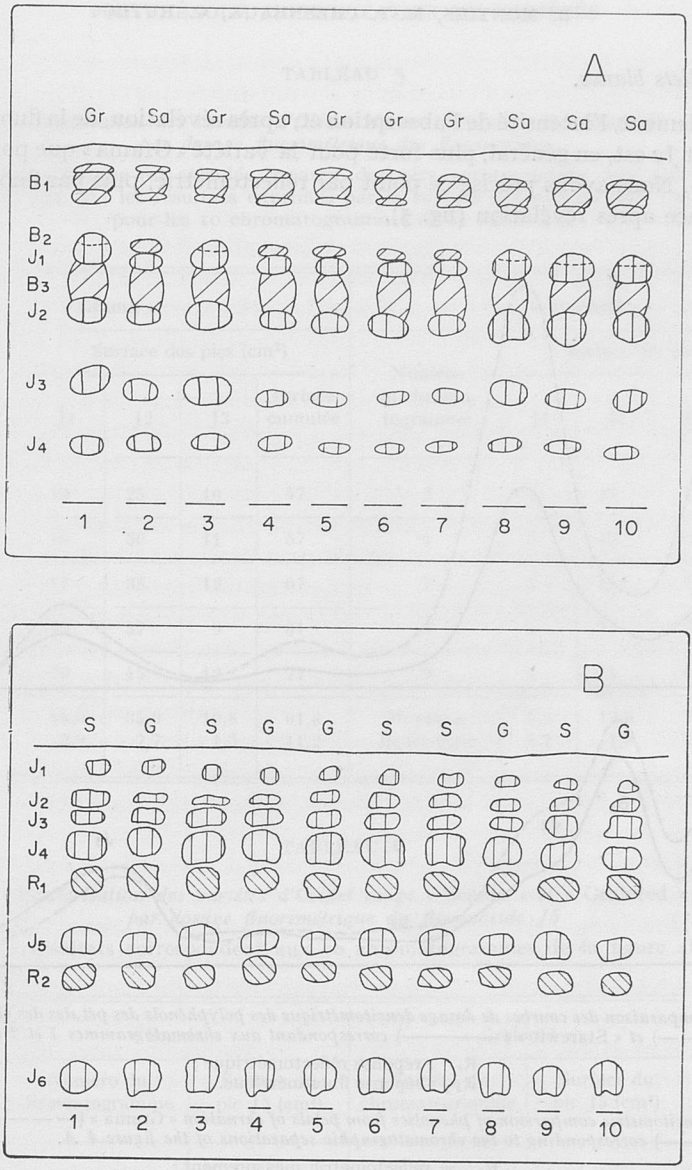


FIG. 4. — *Comparaison par chromatographie sur couche mince des polyphénols présents dans les pétales d'Œillet* (Révélation : réactif de NEU sous UV — Analyse faite sur 5 fleurs individuelles par variété).

— Séparation A : variétés à fleurs blanches { Gr = « Grama »
Sa = « Starewit »)

— Séparation B : variétés à fleurs rouges { G = « Gralored »
S = « Scania »)

Chargement : 5 microlitres par tache d'extrait brut (25 ml) pour les Œillets blancs ou d'extrait concentré à 1 ml pour les Œillets rouges.

Thin layer chromatographic comparison of the relative phenolic content of carnation petals
(Location = NEU reagent under near UV — Analysis of five flowers from each cultivar)
Plate A = white carnations (*Gr* = « Grama », Sa = « Starewit »)
Plate B = red carnations (G = « Gralored », S = « Scania »)
Sampling = 5 microlitres of sample from crude petals extract (25 ml) for white carnations or from concentrated petals extract (1 ml) for red carnations.

a) *Œillets blancs.*

Visuellement, l'intensité de l'absorption et, après révélation, de la fluorescence des taches J1 et J2 est, en général, plus forte pour la variété « Grama » que pour la variété « Starewit ». Nous avons précisé ce point par réflectométrie, puis par fluorimétrie sur couche mince après révélation (fig. 5).

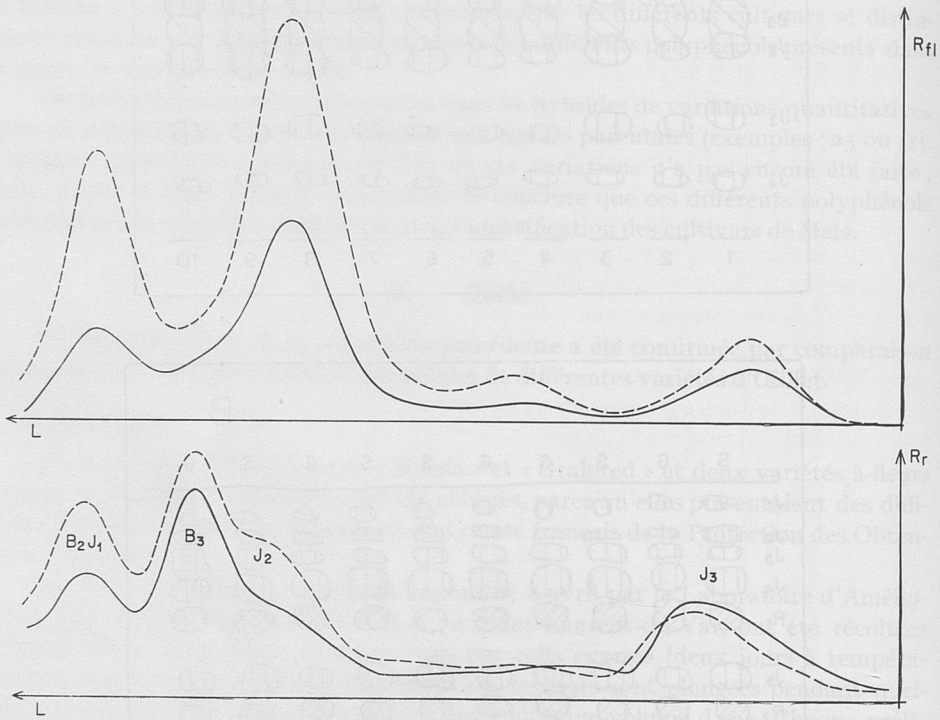


FIG. 5. — *Comparaison des courbes de dosage densitométrique des polyphénols des pétales des Œillets* « Grama » (— — — —) *et* « Starewit » (————) *correspondant aux chromatogrammes 1 et 2 de la figure 4 A*

R_r : réponse réflectométrique ;
R_{F_1} : réponse fluorimétrique.

Thin layer densitometric comparison of phenolics from petals of carnation « Grama » (— — —) *and* « Starewit » (————) *corresponding to the chromatographic separations of the figure 4 A.*

R_r = reflectometric measurement ;
R_{F_1} = fluorimetric measurement.

On voit sur la figure 5 que le dosage réflectométrique des flavonosides J1 et J2 est perturbé par l'absorption propre des pigments B2 et B3. Cet inconvénient disparaît si la mesure est faite par fluorimétrie qui ne révèle que les pigments J1 et J2 (courbes R_{F_1}). Nous avons donc choisi cette dernière technique pour doser les flavonosides J1, J2 et J3 séparés par chromatographie (tabl. 5).

Les teneurs en flavonosides J1, J2 et J3 des pétales des œillets « Grama » et « Starewit » sont très significativement différentes ; ces deux variétés peuvent donc être distinguées sans ambiguité en fonction de leurs teneurs respectives en flavonosides.

TABLEAU 5

Caractérisation des variétés d'Œillet blanc « Grama » *et* « Starewit » *par dosage fluorimétrique des flavonosides*

La réponse fluorimétrique est calculée à partir des pics correspondant aux trois flavonoïdes J1, J2 et J3 (fig. 5) ; les résultats exprimés par la surface des pics en cm², sont indiqués pour les 10 chromatogrammes de la figure 4A.

« Grama »					« Starewit »				
Numéro du chromatogramme	Surface des pics (cm²)				Numéro du chromatogramme	Surface des pics (cm²)			
	J1	J2	J3	surface cumulée		J1	J2	J3	surface cumulée
1	12	25	10	47	2	7	15	7	29
3	16	30	11	57	4	5	12	10	27
5	17	38	12	67	7	5	15	7	27
6	15	37	9	61	8	5	17	7	29
7	20	45	12	77	9	4	15	6	25
Moyenne	16,0	35,0	10,8	61,8	Moyenne	5,2	14,8	7,4	27,4
Écart-type	2,9	7,7	1,3	11,2	Écart-type	1,1	1,8	1,5	1,7

TABLEAU 6

Caractérisation des variétés d'Œillet rouge « Scania » *et* « Gralored » *par dosage fluorimétrique du flavonoside J5*

Les résultats correspondent aux 10 chromatogrammes de la figure 4B

« Scania »		« Gralored »	
Numéro du chromatogramme	Surface du pic J5 (cm²)	Numéro du chromatogramme	Surface du pic J5 (cm²)
1	30	2	9
3	37	4	11
6	36	5	9
7	32	8	10
9	36	10	10
Moyenne	34,2	Moyenne	9,8
Écart-type	3,0	Écart-type	0,8

b) *Œillets rouges.*

Il nous a été impossible de reconnaître visuellement les deux variétés *Scania* et *Gralored* d'après l'intensité des deux taches d'anthocyane R1 et R2 séparées à l'aide du solvant AHW (fig. 4B). Par contre, après révélation par le réactif de Neu, une très nette différence d'intensité de fluorescence apparaît, mais seulement au niveau de la tache de flavonoside J5. Cette observation a été confirmée par fluorimétrie (tabl. 6). Dans ce cas également, on a donc réussi à séparer nettement deux variétés très proches par leurs caractères morphologiques et physiologiques.

CONCLUSION

La principale conclusion qu'il paraît justifié de tirer de l'ensemble des résultats exposés concerne les possibilités d'analyse quantitative des différences variétales. Nous avons discuté l'ensemble des raisons qui font des composés polyphénoliques un des groupes de substances les plus commodes à utiliser pour caractériser les végétaux et les classer dans les différents niveaux de la systématique. A notre connaissance, ils n'ont été utilisés, jusqu'à présent, que d'une manière qualitative ou, au mieux, semi quantitative. Plusieurs auteurs ont observé visuellement des différences d'intensité correspondant à des différences variétales quantitatives de leur équipement polyphénolique ; certains ont même précisé leur déterminisme génétique (KONDO, 1963 ; KIRBY et STYLES, 1970), mais il ne semble pas qu'une étude quantitative de ces différences ait été entreprise.

Or, les résultats obtenus permettent d'envisager une caractérisation plus précise et plus objective des variétés en ayant recours, soit à des méthodes physiques globales (dosages spectrophotométriques d'extraits méthanoliques d'organes végétaux), soit à des méthodes plus spécifiques (dosages densitométriques particuliers de composés séparés par chromatographie). Comme, de toute évidence, il n'existe aucune raison *a priori* pour ne pas étendre à un grand nombre d'espèces agricoles, horticoles, ornementales ou forestières les résultats observés sur des espèces aussi différentes que le Maïs et l'Œillet, on conçoit qu'un large champ d'investigation puisse s'ouvrir à l'expérimentation, qui devrait déboucher sur des progrès considérables dans les méthodes d'identification des variétés.

Toutefois, il faut être bien conscient des limites inhérentes à de telles méthodes ; en particulier, il reste à expliquer et à prendre en compte la variabilité observée entre répétitions de cultures réalisées en conditions normalisées (fig. 3 et tabl. 3). Dans le cas des œillets, des différences analogues ont été trouvées au niveau des fleurs prises individuellement ; en fin de saison, par exemple, il devient très difficile de distinguer quantitativement les différents cultivars d'Œillets blancs, alors que la séparation des variétés à fleurs rouges reste possible.

Ces variations pourraient s'expliquer, au moins en partie, par des phénomènes de régulation au niveau des diverses voies de biosynthèse des polyphénols. KIRBY et STYLES (1970), après avoir démontré le déterminisme génétique de la synthèse des flavonoïdes dans l'aleurone des grains de maïs et l'existence de variations génoty-

piques quantitatives, ont constaté qu'un facteur externe, la lumière, peut se substituer à l'action d'un gène. D'autres auteurs ont observé des modifications dans les proportions relatives des différents polyphénols en fonction de l'âge des plantes (Sing et Thompson, 1961 ; Statham et Crowden, 1974) ou de l'introduction de la stérilité mâle (Pashkar *et al.*, 1973). Il semble possible d'expliquer ces variations culturales par l'accumulation transitoire de précurseurs métabolisés à des vitesses différentes (Brederode, 1974) ou par l'existence d'un catabolisme particulier de ces substances ; dans les deux hypothèses, il pourrait en résulter des variations tant qualitatives que quantitatives dans les équipements polyphénoliques. En effet, une variation quantitative au voisinage de la limite de détection d'une substance peut apparaître comme une différence qualitative par simple franchissement du seuil de détection. Notons au passage que cette remarque justifie la solution retenue pour la description des caractères quantitatifs selon une échelle de 1 à 9 dans les principes directeurs de l'Union pour la Protection des Obtentions végétales : l'intensité la plus faible d'un tel caractère, qui est notée 1, doit toujours être traduite dans la description des variétés par une expression de la forme « nulle ou très faible » et non pas simplement par le mot « nulle » ; ce n'est que dans le cas d'une différence purement qualitative et clairement démontrée qu'il est logique d'admettre des expressions du type « présence-absence ».

Quoi qu'il en soit, une analyse quantitative, par les méthodes que nous avon senvisagées, de nombreux caractères considérés comme qualitatifs devrait contribuer utilement à la maîtrise des variations particulières constatées chez certains cultivars sans qu'on puisse encore bien les comprendre. Malgré des imperfections résiduelles toutes relatives qui doivent pouvoir être partiellement éliminées par l'utilisation systématique de variétés de référence dans les essais, les méthodes biochimiques quantitatives de caractérisation des cultivars apparaissent comme un outil extrêmement puissant pour identifier et séparer les variétés. Si ce fait ne présente guère que des avantages pour le sélectionneur cherchant à analyser la variabilité génétique du matériel végétal à sa disposition ou pour les services officiels responsables de la vérification de l'identité des variétés commercialisées, il n'en va plus de même quand on aborde le problème de la mise en évidence du caractère de nouveauté d'une obtention végétale. En effet, sauf contrefaçon d'une variété existante, il est vraisemblable qu'une analyse biochimique poussée du matériel végétal conduirait, dans la quasi-totalité des cas, à la détection de différences quantitatives suffisantes pour identifier la variété examinée et, partant, conclure à sa nouveauté. La conséquence pratique pourrait être l'apparition sur le marché d'un nombre excessif de variétés très voisines morphologiquement et physiologiquement, qui seraient une source de confusion pour les utilisateurs, qui priveraient les obtenteurs de la juste rémunération de leur travaux et qui, en fin de compte, iraient à l'encontre de la notion de progrès génétique au sens agricole ou horticole du terme. Autrement dit, le développement de méthodes biochimiques quantitatives de caractérisation des variétés appelle, à plus ou moins brève échéance, une réflexion concertée sur la notion de nouveauté des variétés et, sans doute, une définition plus restrictive en relation directe avec les caractéristiques attendues d'un cultivar.

Reçu pour publication en décembre 1975.

SUMMARY

THE CHARACTERIZATION OF CULTIVARS BY MEANS OF QUANTITATIVE DIFFERENCES IN THEIR CONTENTS OF POLYPHENOLIC COMPOUNDS : APPLICATION TO CORN AND CARNATION

A short bibliographical study will underline the importance of varietal characterization by means of quantitative biochemical methods, the analytic and genetic factors, and the characteristics of polyphenolic compounds.

Quantitative varietal differences were revealed in corn ; they concern the overall contents (fig. 1) and relative proportions (fig. 2) of anthocyanins in the sheath of the first leaf of 10 day old plantlets. Analogous differences exist in the flavonoids contents of the petals of red or white carnations : (fig. 4 and 5).

The importance and limitations of these characteristics are discussed, considering the variability in contents which has sometimes been observed, even under standardized conditions of culture : (fig. 3).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ALMGARD G., NORMAN T., 1970. Biochemical technique as an aid to distinguish some cultivars of Barley and Oats. *Agri Hort. Genet.*, **28**, 117-123.

ALSTON R. E., MABRY T. J., TURNER B. L., 1963. Perspectives in chemotaxonomy. *Science*, **142**, 545-552.

ANDERSON D. W., JULIAN E. A., KEPNER R. E., WEBB A. D., 1970. Chromatographic investigation of anthocyanin pigments in *Vitis cinerea*. *Phytochemistry*, **9**, 1569-1578.

AUTRAN J.-C., BOURDET A., 1975. L'identification des variétés de Blé : établissement d'un tableau général de détermination fondé sur le diagramme électrophorétique des gliadines du grain. *Ann. Amélior. Plant.*, **25**, 277-301.

BLANK F., 1947. The anthocyanin pigments of plants. *Bot. Rev.*, **13**, 241-317.

BOWLING A. C., CROWDEN R. K., 1973. Peroxydase activity and lignification in the pod membrane of *Pisum sativum*. *Aust. J. biol. Sci.*, **26**, 679-684.

BREDERODE J. VAN., 1974. *Genetic control of flavone glycoside biosynthesis in* Melandrium. Thèse Doct. Wisk. Rijk Université d'Utrecht — Elinkwijk Edit. Utrecht.

BROWN G. B., DEAKIN J. R., HOFFMAN J.-C., 1971. Identification of Snap-bean cultivars by paper chromatography of flavonoids. *J. amer. Soc. hortic. Sci.*, **96**, 477-481.

DEDIO W., HILL R. D., EVANS L. E., 1972. Anthocyanins in the pericarp and coleoptiles of purple Wheat. *Can. J. Plant. Sci.*, **52**, 977-980.

DOMMERGUES P., GILLOT J., MARTIN C., 1967. Mutagenèse chez l'Œillet de semis (*Dianthus caryophyllus*) : analyse biochimique des pigments floraux. *Abhand. Deutsch. Akad. Wiss.* (Berlin), 349-356.

FEDAK G., RAJHATHY T., 1971; Alpha-amylase distribution and DDT response in canadian Barley cultivars. *Can. J. Plant. Sci.*, **51**, 353.

FEILLET P., 1965. Contribution à l'étude des protéines du Blé. Influence des facteurs génétiques, agronomiques et technologiques. *Ann. Technol. Agric.*, **14**, n° hors série 1, 94 p.

GORDON J., 1974. Effect of plant genotype and digestion on the chemical and physical properties of forage lignins. *Ph. D-University of Guelph. Nat. Library microfiche*, 220 p.

GRANT W. F., 1973. Chemosystematics in the classification of cultivars. p. 293-362. In *Chemistry in Botanical Classification, Proceedings of the 25th Nobel Symposium*, August 20-25, 1973, Stockholm, Edited by G. Bendz and J. Santesson. Almqvist and Wiksell, Uppsala, Sweden. Academic Press, N. Y.

HARBORNE J.-B., 1972. Évolution and function of flavonoids in plants. *Recent Adv. Phytochem.*, **4**, 107-141.

HARBORNE J.-B., 1973. Flavonoids as systematic markers of Angiosperms p. 103, 115. In *Chemistry in botanical classification, Proceedings of the 25th Nobel Symposium*, August 20-25, 1973, Stockholm, Edited by G. BENDZ and J. SANTESSON. Almqvist and Wiksell, Uppsala, Sweden. Academic Press, N. Y.

HOLM G., FROST S., 1972. Thin layer chromatographic studies of phenolic compounds in radiation induced chlorophyll mutations in Barley. *Hereditas*, **70**, 15-22.

KIRBY L. T., STYLES E. D., 1970. Flavonoids associated with specific gene action in Maize aleurone and the role of light in substituting for the action of a genec *Can. J. Genet. Cytol.*, **12**, 934-940.

KONDO A., 1963. Fundamental studies on Rice breeding trough hybridization between japanese and foreign varieties. VII. Identification of the gene controlling anthocyanin coloration in japanese and foreign varieties. (Res. anglais), *Jap. J. Breed.*, **13**, 92-98.

KUC J., NELSSON O. E., 1964. The abnormal lignins produced by the brown-midrib mutant of Maize. *Arch. Biochem. Biophys.*, **105**, 103-113.

MCKEE G. W., 1973. Chemical and biochemical techniques for varietal identification. *Seed Sci. Technol.* **1**, 181-189.

MIZUSHIMA U., KONDO A., KONNO N., 1963. Fundamental studies on Rice breeding trough hybridization between japanese and foreign varieties. VI. Paper chromatography survey of anthocyanins in apiculus of glume in cultivated rice varieties and their hybrids (Res. anglais). *Jap. J. Breed.*, **13**, 88-91.

MOHR H., DRUMM H., KASEMIR H., 1974. Licht und Farbstoffe. *Ber. dtsch. bot. Ges.*, **87**, 49-69.

MONTIES B., 1973. Dosage des acides phénoliques par réflectométrie sur couche mince. *Assemblée générale du Groupe Polyphénols*. Pont de la Morge. Suisse. Mai 1973. *Bull. Liais. Groupe Polyphenols*, **4**, 11 p.

MONTIES B., 1975 *a*. Étude de quelques relations entre polyphénols et photosynthèse présence, compartimentation et métabolisme des polyphénols dans les chloroplastes. *Thèse Doctorat ès Sciences, Faculté des Sciences d'Orsay*, n° 1410, I.N.R.A. édit.

MONTIES B., 1975 *b*. Microdosage par réflectométrie directe dans le proche ultraviolet de l'acide cinnamique et de ses dérivés séparés sur couche mince. (soumis pour publication).

NATIONAL ASSOCIATION OF PLANT PATENT OWNERS., 1975. (Research Summary). *Proc. Plant. Fingerprinting Symposium*. Arlington Park III (U.S.A.) — 14 janv. 1975.

NITTLER L. R. W., 1973. Growth chamber and green house varietal purity test. *Seed Sci. Technol.*, **1**, 163-179.

NYBOM N., 1967. Key for marking the colour of fluorescence on chromatograms. *J. Chromatogr.*, 26, 520-521.

PASHKAR S. I., ZEMZL F. M., SHKOLENKO V. V., KIRTOKA I. Kh., CHALYKTS T. S., 1973. Composés phénoliques et phénomène de stérilité mâle cytoplasmique chez le Maïs (en russe). II. *All. Union Congress Phenolic compounds*, 1971, Alma Ata.

PICARD J., 1976. Aperçu sur l'hérédité du caractère absence de tanins dans les graines de Féveroles. (*Vicia faba L.*). *Ann. Amélior. Plantes*, **26**, 101-106.

RIBEREAU-GAYON P., 1968. *Les composés polyphénoliques des végétaux*. 230-231, Dunod, Paris.

ROWLAND D. G., CORNER J.-J., 1963. Biochemical differences as varietal characteristics for Peas, Beans and Spinach. *Hortic. Res.*, **3**, 13-26.

SARKAR S. K., HOWARTH R. E. 1976. Specificity of the vauillin test for flavonols. *J. Agric. Food Chem.* **24**, 317-320.

SEIKEL M., 1964. In HARBORNE J.-B., *Biochemistry of phenolic compounds*. 33-76, Academic Press-New York.

SINGH K., THOMPSON B. D., 1961. The possibility of identification of vegetables varieties by paper chromatography of flavonoid compounds. *Proc. amer. Soc. hortic. Sci.*, **77**, 520-527.

SMITH I., 1960. *Chromatographic and electrophoretic technics*. Vol. I, 291-308, Heineman Med. Book-London.

SMITH J., BENITEZ A., 1955. In PAECH K., TRACEY M. V., *Modern methoden der Pflanzenanalyse*. Vol. IV, 143-196, Springer, Berlin.

STATHAM C. M., CROWDEN A. K., 1974. Anthocyanin biosynthesis in *Pisum* : sequence studies of pigment production. *Phytochemistry*, **13**, 1835-1840.

STUCZINSKI E., NALECZYNSKA A., STUCZYNSKA J., 1974. Effect of nitrogen fertilization on the content of soluble proteins in hybrids of *Lolium* and their parent forms. *Genet. pol.*, **15**, 201-207.

STYLES E. D., CESKA O., 1972. Flavonoid pigments in genetic strains of Maïs. *Phytochemistry*, **11**, 3019-3021.

VOGEL F., 1968. Identification de deux variétés de Pommes de terre « Désirée » et « Urgenta » par chromatographie des anthocyanes de leur pelure. *Agric. romande*, **7**, 43-44.

VOGEL F., 1970. Identification des anthocyanes des coléoptiles de Blé, *Triticum vulgare* L., *Rech. agron. Suisse*, **9**, 97-108.

VOGEL F., 1971. Caractérisation et identification des anthocyanes des germes de seize cultivars de *Solanum tuberosum* L. *Rech. agron. Suisse*, **10**, 273-284.

NOTE AJOUTÉE EN COURS DE PUBLICATION

Confirmant l'intérêt des méthodes d'analyse quantitative des polyphénols pour distinguer les variétés, QUINLIVAN B. J. *et al.* (1976, *Seed Sci. Technol.*, **4**, 185-190) ont montré qu'il est possible d'identifier les variétés de Trèfle souterrain

(*Trifolium repens*) par analyse des isoflavones de plantules de 14 à 21 jours. Ces auteurs rapportent aussi l'existence de grandes variations inter-individuelles. Chez la Luzerne (*Medicago* sp.) des différences variétales de teneur en ces isoflavones œstrogéniques ont été aussi observées ; leurs variations dépendraient à la fois de facteurs physiologiques, climatiques et surtout phytosanitaires (BICKOFF E. M., 1976, communication personnelle ; voir aussi *U.S.D.A. Tech. Bull.*, nº 1408, 95 p., 1969). L'importance pratique de ces variations de teneur est considérable parce que certains de ces polyphénols se retrouvent dans les poudres de protéines extraites des feuilles de luzerne et cela, en l'absence de quantités appréciables de tanins de type flavane (MONTIES B. — Résultats non publiés).

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (4), 517-521.

UTILISATION CONJOINTE DE LA STÉRILITÉ MÂLE ET DE LA RÉSISTANCE AU VIRUS DE LA MOSAÏQUE DU TABAC CHEZ LA TOMATE

H. LATERROT

avec la collaboration technique d'Hélène THOMAS

Station d'Amélioration des Plantes maraîchères,
Centre de Recherches d'Avignon, I. N. R. A.,
84140 Montfavet

RÉSUMÉ

L'utilisation conjointe de la stérilité mâle *ms 35* et de la résistance au virus de la Mosaïque du Tabac contrôlée par le génotype *Tm2²Tm1*/++ ne présente pas d'inconvénient au niveau de la mise à fruits des hybrides F_1. Pour des raisons pratiques, il est conseillé d'utiliser *ms 35* chez le parent résistant au TMV plutôt que dans la lignée sensible.

INTRODUCTION

La stérilité mâle contrôlée par l'allèle *ms 35* est de plus en plus utilisée en France pour la fabrication de semences des hybrides F_1 de tomate. Les hybrides F_1 ainsi obtenus se montrent aussi fertiles que les versions correspondantes produites à partir de plantes mâle-fertiles castrées manuellement (PHILOUZE, 1974).

Des hybrides F_1 résistants au virus de la Mosaïque du Tabac (= TMV) sont maintenant commercialisés en France. La plupart sont hétérozygotes pour les deux allèles de résistance *Tm2²* et *Tm1*. Chacun de ces allèles entraîne à l'état homozygote une faible production de pollen chez les lignées résistantes. Chez les hybrides commercialisés, l'hétérosis rétablit une fertilité satisfaisante.

Ainsi le génotype *ms 35*/+ n'entraîne pas de diminution de fertilité et il en est de même dans le cas du génotype *Tm2²Tm1*/++ lorsque l'effet d'hétérosis est suffisant. Il nous a paru utile de vérifier qu'il en était de même chez les hybrides hétérozygotes à la fois pour les trois allèles *ms 35*, *Tm2²* et *Tm1*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'étude a été réalisée en comparant 6 paires d'hybrides F_1 *Tm2²Tm1*/++, chaque paire comprenait :

— un hybride fabriqué à partir d'une lignée sensible au TMV mâle-fertile castrée manuellement et pollinisée par une lignée homozygote à la fois pour *Tm2²* et *Tm1*,
— un second hybride fabriqué sur des plantes mâle-stériles *ms 35*/*ms 35* du même type variétal que la lignée mère du premier hybride et pollinisées par la même lignée résistante au TMV.

Les lignées utilisées comme mères dans les combinaisons étudiées sont « Monalbo », « Porphyre » et « Apédice » et les versions mâle-stériles de ces mêmes lignées obtenues à la Station de Montfavet après cinq recroisements de « Pearson VF6 *ms 35* », par les trois lignées ci-dessus. L'entretien de ces lignées mâle-stériles est assuré en croisant des plantes *ms 35*/*ms 35* avec des plantes *ms 35*/+ à l'intérieur de la même lignée (PHILOUZE, 1974). Ces lignées mâle-stériles sont considérées comme quasi isogéniques, sauf pour l'allèle *ms 35*, des variétés récurrentes correspondantes.

Les lignées apportant la résistance au TMV sont homozygotes à la fois pour *Tm2²* et *Tm1* ; l'une est du type « Monalbo » l'autre du type « Porphyre » et la troisième : « Moapécimor » est une lignée résultant d'un croisement complexe. Les trois lignées ont été obtenues à la Station de Montfavet.

Les combinaisons hybrides réalisées sont rapportées dans le tableau 1.

TABLEAU I

Hybrides F_1 Tm2²Tm1/++ *fabriqués avec ou sans la stérilité mâle* ms 35 *et conditions dans lesquelles ont été réalisées les comparaisons de productivité*

Combinaisons hybrides réalisées			Conditions d'essai	
Parents sensibles au TMV	Parents résistants au TMV	Numéro des hybrides F_1	Serre	Champ
« Monalbo »	« Monalbo Tm2²Tm1 »	1 F	1975	1974
« Monalbo ms 35 »	—	1 S		
« Porphyre »	—	2 F	1974	1974
« Porphyre ms 35 »	—	2 S		
« Apédice »	—	3 F	1975	1975
« Apédice ms 35 »	—	3 S		
« Monalbo »	« Moapécimor Tm2²Tm1 »	4 F	1975	1975
« Monalbo ms 35 »	—	4 S		
« Porphyre »	—	5 F	1974	1974
« Porphyre ms 35 »	—	5 S		
« Apédice »	« Porphyre Tm2²Tm1 »	6 F	1975	1975
« Apédice ms 35 »	—	6 S		

Conduite de l'essai

Chaque paire d'hybrides a été observée sous deux conditions de culture :

— en serre chauffée en culture de printemps. Semis en décembre, plantation en février et récolte de fin avril à fin juin ; à raison de 2 répétitions (3 répétitions en 1975) de 4 plantes conduites sur une tige taillée à 6 inflorescences.

— en plein champ en culture d'été. Semis sous abri début mars, plantation en pleine terre fin avril-début mai et récolte de début juillet à début août ; à raison de 2 répétitions de 8 plantes, conduites sur une tige taillée à 4 inflorescences.

Les fruits ont été récoltés à maturité, pesés et comptés.

RÉSULTATS

Les résultats sont rapportés dans le tableau 2. Les résultats concernant les hybrides fabriqués sur plantes mâle-stériles (S) sont rapportés en pourcentage de ceux obtenus avec les hybrides correspondants fabriqués sur plantes mâle-fertiles castrées (F).

Sont ainsi rapportés :

1. le rendement précoce, c'est-à-dire celui obtenu à mi-production de l'hybride F correspondant ;
2. le rendement total ;

TABLEAU 2

Caractéristiques de la production des hybrides F_1 $Tm2^2Tm1/++$ *fabriqués sur plantes mâle-stériles* ms 35

— Pourcentage par rapport à l'hybride F_1 correspondant fabriqué sur plantes mâle-fertiles castrées manuellement.

— Moyenne générale concernant l'ensemble des hybrides avec indication de l'intervalle de confiance de la moyenne calculé à partir de $t_{0,05}$ (= 2,20 pour 11 d.l.) × S_m.

Hybrides F_1 observés	Conditions d'essai	Rendement		Poids moyen du fruit		Nombre total de fruits par plante
		précoce 1	total 2	précoce 3	global 4	5
1 S	Serre 75	77	87	87	94	94
1 S	Champ 74	122	89	112	100	88
2 S	Serre 74	100	97	100	95	110
2 S	Champ 74	96	99	105	108	95
3 S	Serre 75	108	83	88	86	92
3 S	Champ 75	95	96	108	103	94
4 S	Serre 75	95	108	108	100	113
4 S	Champ 75	96	83	90	89	92
5 S	Serre 74	114	99	104	97	101
5 S	Champ 74	82	88	88	90	104
6 S	Serre 75	93	102	101	103	91
6 S	Champ 75	95	108	107	110	91
Moyenne générale		97,8	94,9	99,8	97,9	97,1
Limites de l'intervalle de confiance de la moyenne		89,9 105,7	89,3 100,5	94,0 105,6	93,2 102,7	92,0 102,2

3. le poids moyen des fruits récoltés jusqu'à mi-production de l'hybride F;
4. le poids moyen global des fruits ;
5. le nombre total de fruits, y compris les fruits encore verts en fin d'essai.

Aucune différence significative (seuil 0,05 p. 100) n'a été mise en évidence par l'analyse statistique (test F) appliquée aux données en poids et nombre relatives à chaque paire d'hybrides. Ces données ont servi ensuite à établir le tableau 2.

Le test de Kolmogorov Smirnov (in SIEGEL, 1956) a montré que chaque série de données du tableau 2 est assimilable à une distribution de loi normale ($p < 0{,}05$). Les moyennes de chaque colonne sont suivies de leur intervalle de confiance ($\pm t_{0,05} = 2.20 \times S_m$).

DISCUSSION ET CONCLUSION

Les résultats obtenus montrent qu'il n'y a pas de différence entre les hybrides F_1 *Tm2²Tm1*/++ fabriqués sur plantes mâle-stériles et ceux produits sur plantes mâle-fertiles castrées manuellement. En effet, il n'y a pas de différence significative dans aucune des paires d'hybrides. De plus, le pourcentage moyen correspondant aux diverses caractéristiques de production des F_1 fabriqués sur plantes mâle-stériles ne varie pas significativement de la valeur 100 à laquelle ont été ramenés les résultats obtenus avec les hybrides produits sur plantes mâle-fertiles.

Sur un plan pratique, le sens des croisements réalisés pour fabriquer le matériel utilisé dans cette étude n'est pas celui que devra retenir le sélectionneur. En effet, les plantes homozygotes pour *Tm2²* et *Tm1* produisant très peu de pollen il est plus rationnel de les utiliser comme mères. De plus, la production de semences sera certainement meilleure sur les plantes résistantes au TMV. Les sélectionneurs ont donc intérêt à introduire *ms 35* dans leurs lignées homozygotes pour *Tm2²* et *Tm1*.

Reçu pour publication en janvier 1976.

REMERCIEMENTS

Nous remercions particulièrement M. PITRAT pour l'aide qu'il nous a apportée dans l'analyse statistique des résultats ainsi que Mlle VEAR et M. FOUILLOUX qui ont accepté de corriger cet article.

SUMMARY

SIMULTANEOUS USE OF MALE-STERILITY WITH THE TOBACCO MOSAIC VIRUS RESISTANCE IN TOMATO

The simultaneous use of *ms 35* male-sterility with the Tobacco Mosaïc Virus resistance controled by *Tm2²Tm1*/++ genotype is not prejudicial to the fruit setting of F_1 hybrids. It is advised, for practical reasons, to introduce *ms 35* in the TMV resistant parent rather than in the susceptible line.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

HEDDE L., 1974. Les nouvelles variétés de Tomate résistantes au Virus de la Mosaïque du Tabac. *Pépiniéristes, Horticulteurs, Maraîchers*, **151**, 57-59.

LATERROT H., 1973. Résistance de la Tomate au Virus de la Mosaïque du Tabac. Difficultés rencontrées pour la sélection de variétés résistantes. *Ann. Amélior. Plantes*, **23** (4), 287-313.

LATERROT H., PECAUT P., 1975. Practical use of the TMV resistance in Tomato. *IId. Int. Conf. on Progress and Problems in vegetable virus Research*, Montfavet, september 1975 (Abstracts).

PHILOUZE J., 1974. Utilisation pratique d'une lignée mâle-stérile *ms 35* chez la Tomate. *Ann. Amélior. Plantes*, **24** (2), 129-144.

SIEGEL S., 1956. *Non parametric statistics for the behavioral sciences* McGRAY-HILL Book Co, New York, Toronto, London.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (4), 523-547.

LA NOTION DE PROGRAMME GÉNÉTIQUE CHEZ LES VÉGÉTAUX SUPÉRIEURS

II. — Aspect expérimental [1]

Obtention de variants par culture de tissus *in vitro* sur *Lactuca sativa* L. Apparition de vigueur chez les croisements

Monique SIBI

Laboratoire d'Amélioration des Plantes,
91405 Université Paris-Sud Orsay

RÉSUMÉ

Nous avons réalisé la culture de tissus *in vitro* de *Lactuca sativa* L. Cette plante possède un nombre de chromosomes $2n = 18$. Nous avons vérifié l'homozygotie des plantes utilisées.

Les cultures ont été maintenues sans régénérations pendant plusieurs cycles de repiquages. Par changement des conditions de milieu, nous avons obtenu le développement de bourgeons. Les plantules « P_0 » ont été prélevées et cultivées en terre après l'émission de racines.

La forme de ces plantes diffère de celle des témoins bien que leur nombre chromosomique soit identique, et nous les avons nommées « phénovariants ».

Les descendants « P_1 » issus de l'autofécondation de chaque plante « P_0 » ont été cultivés dans les conditions naturelles, en comparaison avec le témoin.

L'ensemble des familles « P_1 » présente des caractères qui ne ségrègent pas, tels que : diminution du poids des plantes, de longueur et largeur de feuille ; accroissement du nombre de bourgeons axillaires développés ; particularités de forme ou de coloration.

Les générations ultérieures d'autofécondation « P_2 », « P_3 » et « P_4 » se sont maintenues identiques à elles-mêmes, pour la plupart des observations, et sans ségrégations. Ainsi les plantes « P_0 » ne seraient pas affectées dans leur ADN nucléaire.

Les croisements diallèles ont été réalisés entre phénovariants et témoin. On constate, pour un caractère précis, une transmission par voie maternelle. La plupart des plantes issues de ces croisements présentent une vigueur supérieure à celle des autofécondations. Des hypothèses explicatives sont présentées quant aux divers niveaux biologiques qui pourraient être impliqués.

I. — INTRODUCTION

Toutes les cellules d'un individu contiennent le même génotype. Cependant, les diverses parties d'une plante ont un aspect différent. Cela met en évidence le fait que les synthèses requises pour la croissance et le fonctionnement ne sont pas iden-

[1] Sur ce même sujet, un premier article « I. — Aspects théoriques » a été publié par Y. Demarly (1976) ; ce travail a été réalisé sous sa direction.

tiques dans toutes les cellules. L'expression héréditaire est donc variable suivant les conditions.

Il est possible de schématiser l'ensemble des facteurs qui induit le fonctionnement du génome et de le décomposer, selon les termes employés par THOM (1972) et DEMARLY (1975), en dynamiques « mobiles » et « filtrantes ». Nous pouvons considérer comme des espaces emboîtés (fig. 1), les éléments successifs suivants :

— le végétal qui capte, au moyen du filtre que sont ses organes d'échange avec l'extérieur, une information apportée à la fois par le milieu externe et par la dynamique mobile des individus avoisinants ;

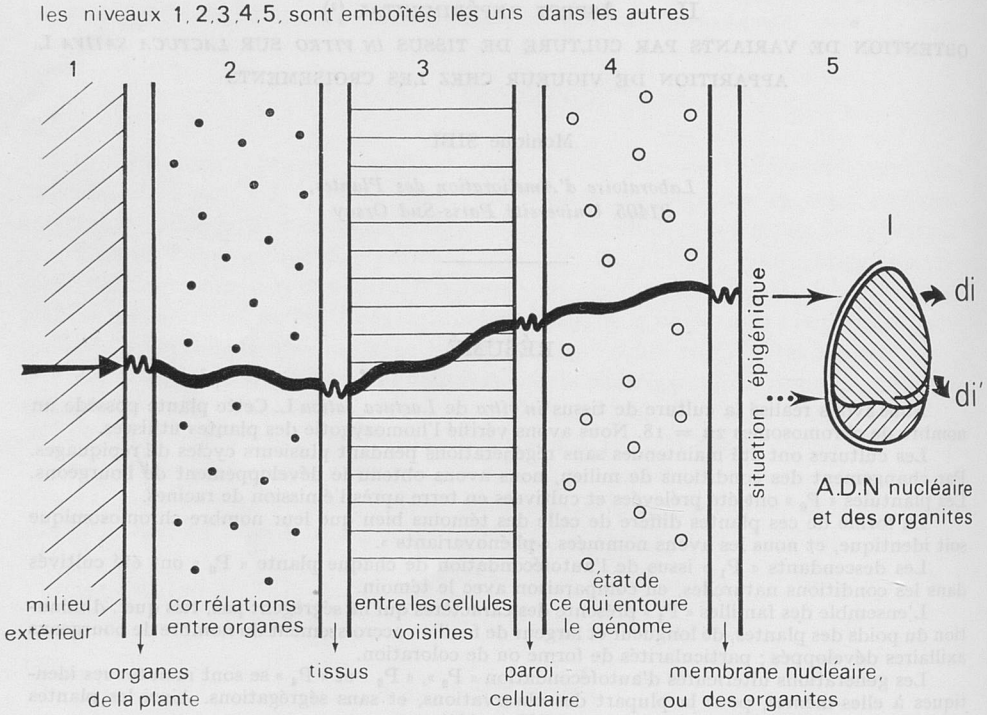


FIG. 1.

— les tissus, dynamiques filtrantes des corrélations entre organes ;

— les cellules, dont les parois interviennent sur la dynamique des relations intercellulaires ;

— l'état cytoplasmique dans son ensemble, dont les signaux sont filtrés, par la membrane nucléaire d'une part, et par celle des organites d'autre part.

Ainsi, les signaux extérieurs de départ subissent une traduction et une distorsion au niveau de chacune de ces dynamiques.

Simultanément, du côté chromosomique, les mécanismes de rétroaction entraînent des processus automatiques de régulation en chaîne des divers opérons.

A chaque instant t, l'interférence entre ces deux ensembles établit une situation épigénique qui, selon la théorie de BRITTEN et DAVIDSON (1969), serait enregistrée

par des gènes « sensoriels » ; en réponse, par l'intermédiaire de gènes intégrateurs, une partie spécifique di_t de l'information I s'exprimerait. Ainsi, la lecture des diverses fractions di de l'information s'ordonne selon un programme P qui aboutit à l'expression normale du génome et à l'apparition du phénotype habituel.

Le but et le principe de notre expérience consiste donc à tenter de modifier l'expression du génome en perturbant les tensions induites par les dynamiques.

Pour cela, nous allons exciser un fragment tissulaire et le cultiver *in vitro*. Cette excision supprime les premiers couples de dynamiques mobiles et filtrantes dont nous avons parlé précédemment, ce qui déséquilibre et change l'ensemble des autres (fig. 1).

A l'instant t donné, ce ne sera donc plus la séquence d'information di_t, mais di'_t qui sera sollicitée. Ce changement possible de l'expression génétique est déjà illustré par le travail de PICARD (1974) : après action d'un traumatisme sur un épillet de blé, puis mise en culture *in vitro* des anthères, on observe que le plan de clivage de la microspore, lors de la première mitose pollinique, se place perpendiculairement à son orientation dans la mitose normale ; cela conduit au développement d'une plante haploïde, la microspore se comportant dès lors comme un embryon.

Lors de la culture de tissus, si la régénération de plantules est immédiate, les dynamiques dues aux corrélations entre cellules et entre organes vont être rétablies, de même que le fonctionnement relatif à une telle structure (fig. 1). Tant qu'il n'y a pas ce type de morphogenèse, diverses dynamiques cytoplasmiques et épigéniques peuvent s'installer et induire un nouveau programme P'. Celui-ci peut même différer considérablement de P puisque, dans un cal, les cellules ne sont pas appelées à une grande spécialisation, ni à des performances particulières et bien définies ; il leur suffit de se diviser pour survivre.

Ainsi, il est théoriquement possible d'induire des modulations diverses dans le fonctionnement du génome, entraînant de nouvelles voies de différenciation, ou nouvelles « chréodes » au sens de WADDINGTON (1968). Par la suite, le développement de bourgeons, puis de plantules, issus de ces cellules ou groupes cellulaires nous permettra de visualiser et donc de vérifier l'existence d'un tel phénomène, et son maintien au cours du temps.

II. — MATÉRIEL ET MÉTHODE

A. — *La plante*

Les expériences ont été menées sur la laitue, *Lactuca sativa* L., plante autogame, diploïde, où $2n = 18$.

La variété « Val d'Orge » utilisée, est une laitue d'hiver à pomme arrondie et feuilles gaufrées. Elle nous a été fournie par la Station d'Amélioration des Plantes de Versailles (I.N.R.A.). C'est une lignée considérée comme fixée d'après sa stabilité au cours des autofécondations successives.

B. — *Étapes successives de l'expérimentation*

Les graines issues de l'autofécondation d'une unique plante sont mises à germer, puis utilisées de la façon suivante (fig. 2).

Un premier lot est cultivé de façon normale, et, considéré comme témoin. Il est multiplié par autofécondation, et on vérifie qu'aucun caractère ne ségrège au cours des générations T_0, T_1, T_2, T_3.

Par ailleurs, les cotylédons excisés sur des graines germées de ce même génotype sont déposés sur milieu synthétique nutritif afin qu'ils constituent des cals. Ils sont conservés en conditions non régénérantes pendant plusieurs cycles de repiquages ; la régénération est obtenue ultérieurement par changement des conditions expérimentales. Les plantules néoformées P_0 sont alors prélevées stérilement et transplantées sur milieu rhizogène ; elles sont ensuite cultivées en terre.

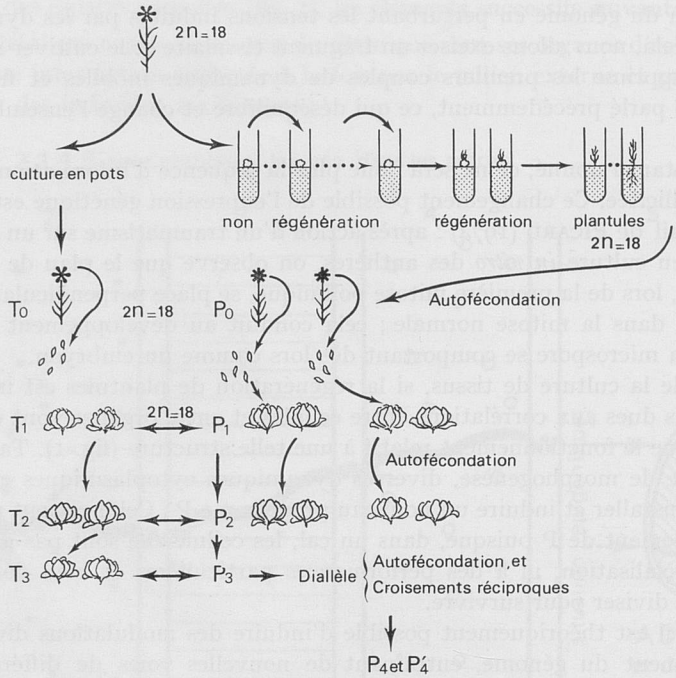


FIG. 2.

Les plantes P_0 ont été observées, puis nous avons entrepris leur analyse génétique, à la fois après autofécondation pendant plusieurs générations P_1, P_2, P_3, P_4, ainsi qu'après croisements diallèles au niveau de la génération P_3.

C. — *Techniques*

1. *Culture* in vitro.

Le matériel tissulaire est entretenu sur un milieu nutritif gélosé. La composition des divers types de milieux est la suivante :

a) *Milieu de culture des cals :*

— *Milieu de base dit SH :*

Macro-éléments de MURASHIGE et SKOOG (1962) ;
Micro-éléments de HELLER (GAUTHERET, 1959) ;
Vitamines de MOREL (GAUTHERET, 1959) ;
Fer éthyl-diaminotétracétique (Fe EDTA).

— *Additifs :*

Saccharose : 20 p. 1 000 ;
Agar : 8 p. 1 000.

— *Substances de croissance :*

Lors de la mise en culture : acide naphtalène acétique (ANA) : 10^{-7}, kinétine : 10^{-6} ;
Pendant les repiquages ultérieurs : acide naphtalène acétique (ANA) : 10^{-7}, kinétine : 10^{-7} ;
— le pH est ajusté à 5,9.

b) *Composition du milieu induisant la formation des racines :*

Milieu de base SH ;
Saccharose : 30 p. 1 000 ;
Agar : 6 p. 1 000 ;
Substance de croissance : acide indol-butyrique (AIB) : $2 \cdot 10^{-8}$;
le pH est ajusté à 5,9.

La pièce de culture est maintenue à une température comprise entre 18 et 20°C.

Les cals « amorphes » sont conservés à l'obscurité. La régénération est obtenue sous l'action d'une photopériode de 18 heures, réalisée par des tubes Gro-Lux dont l'éclairement varie entre 3 000 et 5 000 lux.

Ils possèdent un spectre compris entre 4 000 et 7 000 Å, avec deux pics, l'un à 4 500 Å et l'autre à 6 600 Å, radiations les plus efficaces pour l'assimilation chlorophyllienne.

2. *Cultures en terre.*

a) Les plantes régénérées P_0 sont cultivées en pot, au laboratoire à une température de 18°C, avec 10 à 18 heures de jour suivant le stade des plantes.

b) Les autofécondations successives P_1 puis P_2 sont analysées en châssis dans les conditions extérieures (Station d'Amélioration des Plantes de Versailles, I.N.R.A.).

Les essais sont constitués de trois blocs randomisés, avec, pour chaque famille, un effectif de 15 individus par répétition.

c) Les plantes de la génération P_3 et leurs descendants P_4 issus de croisements ou d'autofécondation, sont cultivés à Orsay en châssis dans un dispositif de deux blocs avec dix individus par répétition, pour chaque famille.

3. *Comptages chromosomiques.*

Ils sont effectués par la méthode de Feulgen au niveau de l'apex des racines, pendant la période végétative.

4. *Technique de croisement.*

L'ouverture des capitules mûrs à lieu chaque matin, au lever du soleil. Elle dure entre 1/2 heure et 1 heure suivant les conditions climatiques.

La castration se fait à la main, elle consiste à détacher le manchon d'étamines de chaque fleur, dès l'épanouissement du capitule ; celui-ci est ensuite rincé à l'eau puis séché.

On pollinise lorsque tous les styles sont dressés et que les stigmates sont bien ouverts en « T ».

La maturation des graines a lieu en une vingtaine de jours.

5. *Analyses statistiques.*

a) L'homogénéité des variances intra-familles de chaque répétition est testée au moyen du test F de Snedecor afin de vérifier qu'il n'y a pas ségrégation.

b) Nous utilisons l'analyse de variance à deux critères de classification avec répétition, modèle croisé et échantillons de même effectif (Dagnélie, 1970).

c) Pour chaque génération, les moyennes sont classées, puis regroupées par la méthode du « new range test » de Duncan citée par Rives (1959).

d) Les croisements diallèles sont analysés sans les autofécondations, selon le modèle de Griffing (1956).

III. — RÉSULTATS ET DISCUSSION

A. — *Obtention de la génération « P_0 »*

1. *Données générales sur la culture de tissus* in vitro.

A l'inverse de différents milieux de base testés, les substances de croissance ont une action très spécifique, étroitement liée à leur nature et à leur concentration :

— L'acide 2-4 dichlorophénoxyacétique couplé à d'autres substances ou utilisé seul inhibe de façon générale le développement de ce matériel tissulaire ;

— L'ANA induit la formation de racines ;

— La kinétine active la multiplication cellulaire ;

— L'association de ces deux dernières provoque l'apparition de bourgeons néoformés.

Nous voyons ainsi qu'un ensemble cellulaire a la possibilité d'utiliser diverses voies de différenciation ou « fibrations » selon le message transmis : (Thom, 1972 ; Demarly, 1975). La réponse du cal primaire (directement issu des cotylédons) à l'ANA, à la kinétine ou à leur couple n'est pas immédiate, mais elle est directe, ce qui n'est plus vrai dès le premier repiquage sur un nouveau milieu.

Les cals « amorphes » ont une taille supérieure à celle des cals qui régénèrent des bourgeons. Ceci exprime l'antagonisme qui existe entre la division cellulaire rapide aboutissant à la constitution d'un cal amorphe, et la spécialisation cellulaire avec division plus lente entraînant soit un métabolisme biosynthétique important ou même la formation de bourgeons ou d'organes particuliers (Demarly, 1972).

2. *Description des plantes « néoformées »*.

En présence d'ANA et de kinétine, l'obscurité inhibe la régénération. Cette phase de multiplication cellulaire sans néoformation est nécessaire à l'expression de phénovariants. L'apparition des bourgeons n'a lieu qu'après exposition à la lumière.

Dès que ce type de morphogenèse est induit en un point du cal, il se maintient et s'étend comme par contagion (Demarly, 1973) au cours des cycles successifs de repiquages.

Les différentes parties d'un même cal peuvent cependant présenter simultanément des structures diverses, le fonctionnement des cellules étant lié à leur position relative dans le cal (Wolpert, 1969).

La gamme de variabilité des néoformations est très étendue. Il y a tous les intermédiaires de formes entre les ébauches de structure organisée et la plantule, soit :

— des nodules verts formant des excroissances ;

— des feuilles directement issues du cal ;

— de texture particulière, transparentes, à l'aspect « confit », au contour irrégulier, sans axes ni nervures bien structurés ;

— épaisses, de couleur sombre, et de forme arrondie, ou découpée ;

— des bourgeons à feuilles très étroites.

Aucune rhizogenèse n'est observable sur ces formes qui sont létales. Mais aussi, il se développe diverses formes de plantules viables que nous appellerons P_0 :

— en rosette avec des feuilles assez larges et arrondies ;

— avec des entre-nœuds assez longs et des bourgeons axillaires « buissonnants » et malformés ;

— présentant des fasciations qui se maintiennent pendant tout le cycle de croissance ;

— avec des feuilles de type différent d'une plante à l'autre, mais aussi sur un même individu (à découpures irrégulières, en cône pétiolé, à gaufrures anormales).

Ces organes n'apparaissent qu'en début de régénération. Par la suite, les processus de la différenciation se régularisent et les plantules prennent un aspect normal.

Des observations analogues sur la variabilité phénotypique des néoformations issues de cals, ont été rapportées par de nombreux auteurs dont Lutz (1969) ; Mousseau (1970) ; Pelletier (1971) ; Heinz et Mee (1969, 1971).

Nous désignerons par le terme de « phénovariants primaires » ces plantes régénérées dont le phénotype diffère de celui des individus témoins issus de graines.

Ces néoformations transplantées sur un milieu rhizogène s'enracinent avec une forte fréquence de l'ordre de 75 p. 100 ; cependant certaines ne donnent jamais de racines, et se fanent.

3. *Reprise en terre et croissance des phénovariants primaires.*

Les plantules régénérées sont très fragiles et doivent être traitées avec précaution.

De façon générale, ces plantes dont le nombre chromosomique est toujours de $2n = 18$, se développent plus rapidement que les témoins ; elles montent facilement à fleur sous l'influence de températures supérieures à 18°C, même sous une courte photopériode. Leur stérilité est en moyenne très supérieure à celle des plantes témoins entretenues dans des conditions identiques. Ceci est sans doute lié à la montaison qui a souvent lieu avant que les plantes n'aient pommé, donc trop tôt.

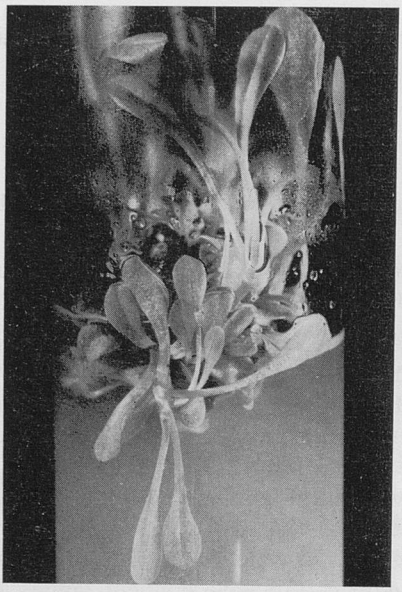
4. *Discussion.*

Il faut souligner le fait qu'à cette génération P_0 le nombre chromosomique de toutes les plantes mises en pot est normal ($2n = 18$) comme chez le témoin. Il se peut que, lors de la régénération des bourgeons, ou au moment de l'émission des racines, une contre-sélection ait lieu au niveau de cellules anormales (quelques cellules tétraploïdes ont été observées dans les cals). Dans le même ordre d'idées, les diverses formes régénérées observées ne matérialisent qu'une faible partie des possibilités d'expression du génome ou « déploiement du génotype » (Thom, 1972) puisque plusieurs barrières de criblage agissent à différents stades :

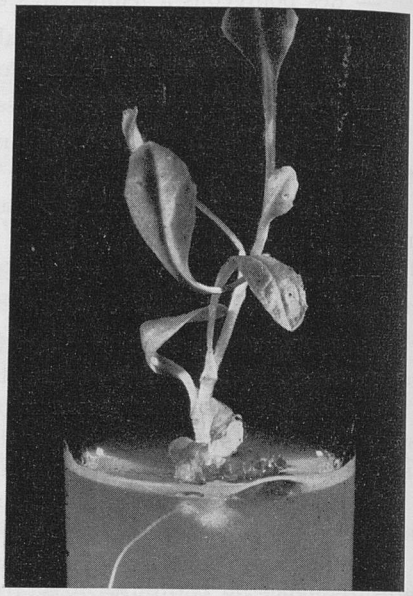
— seules certaines cellules du cal ont la possibilité de donner une néoformation de plantules viables ;

— toutes les néoformations ne s'enracinent pas, même en milieu favorable ;

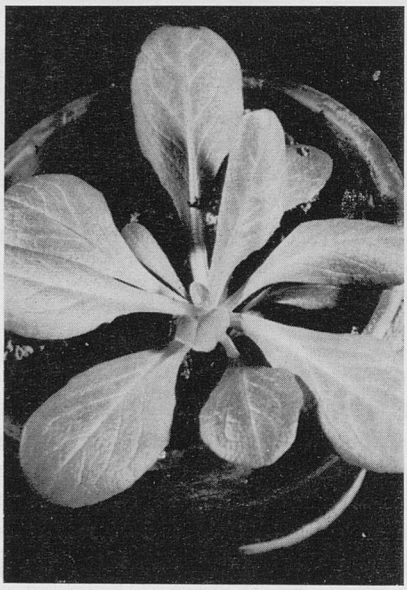
— une partie des individus seulement reprend en pots ;



1



2



3

4

PLANCHE I

1 bourgeons et plantules issus d'un cal ;
2 plante régénérée mise sur milieu rhizogène ;
3 jeune plante témoin (T_0) ;
4 plante régénérée après reprise en terre (P_0).

— la montée à fleur est un fait général, mais les plantes ne donnent pas toujours un nombre de graines suffisant pour que l'analyse de leur descendance puisse être réalisée.

Notons que le développement observé pour les plantes P_0 résulte non seulement des conditions de culture, mais aussi de l'ensemble des potentialités des cellules du cal qui vont constituer la plante. Contrairement à l'opinion classique que les bourgeons régénérés *in vitro* proviennent d'une cellule unique, certains travaux montrent (Bunisset, 1972) une origine pluricellulaire des régénérations. Les plantes P_0 pourraient donc éventuellement être des chimères. Par ailleurs, la plante régénérée est constituée de diverses sous-couches dont les potentialités peuvent différer sensiblement (Satina, Blakeslee et Avery, 1940). Leur devenir n'est pas identique puisque la sous-couche la plus profonde L_{III} initie la formation des racines de la plante (niveau de comptage chromosomique), tandis que seule la sous-couche L_{II} intervient dans la constitution des gamètes donc de l'embryon qui représente la génération suivante. La sous-couche L_I est, elle, à l'origine des parois de la graine (Sagawa et Melhquist, 1957 ; Pereau-Leroy, 1975). Donc, dans la descendance, seule s'exprimera la part transmissible, après méiose, de la variation manifestée par les individus P_0.

La possibilité d'une origine pluricellulaire et ce que l'on sait de la constitution en couche rendent nécessaire l'autofécondation des plantes P_0 et l'étude de chaque famille de plantes P_1 qui en résulte.

B. — *Analyse par voie d'autofécondation*

1. *Types de variations observées.*

Nous avons pu observer des résultats de deux ordres :

1° Apparition dans l'une des familles d'une déficience chlorophyllienne ségrégeant dans la proportion 3/4 ; 1/4, nous laissant conclure à la présence d'une mutation génique récessive chez la plante-mère P_0, ou d'une micro-délétion.

2° D'autres types de variations ont pu être constatés :

a) *Variations qualitatives sans ségrégations.*

Une famille « *a* » est entièrement homogène, avec des feuilles lisses, aplaties, glauques, disposées en rosette. Elle diffère donc entièrement du témoin, bien que les caractères ne ségrègent pas.

Une famille « *b* » dont chaque plante a les feuilles plus jaunes que celles du témoin, et une famille « *c* » dont les feuilles du centre sont très pâles.

b) *Variations quantitatives.*

— Évolution du nombre de feuilles au cours de la croissance. Des fluctuations sont observables pendant tout le développement : elles sont propres à chaque famille aussi bien chez les descendants que chez les témoins. On ne peut pas distinguer nettement de groupes témoins et phénovariants. Il semble que cette caractéristique soit extrêmement sensible aux conditions extérieures et que l'on ne puisse dissocier d'effet relatif à la provenance des familles ou des témoins.

— Le poids (fig. 3).

Le poids moyen, pour l'ensemble des familles P_1, est plus faible que celui des témoins.

Pour ces deux caractères il n'est à noter aucune variance intrafamiliale significative.

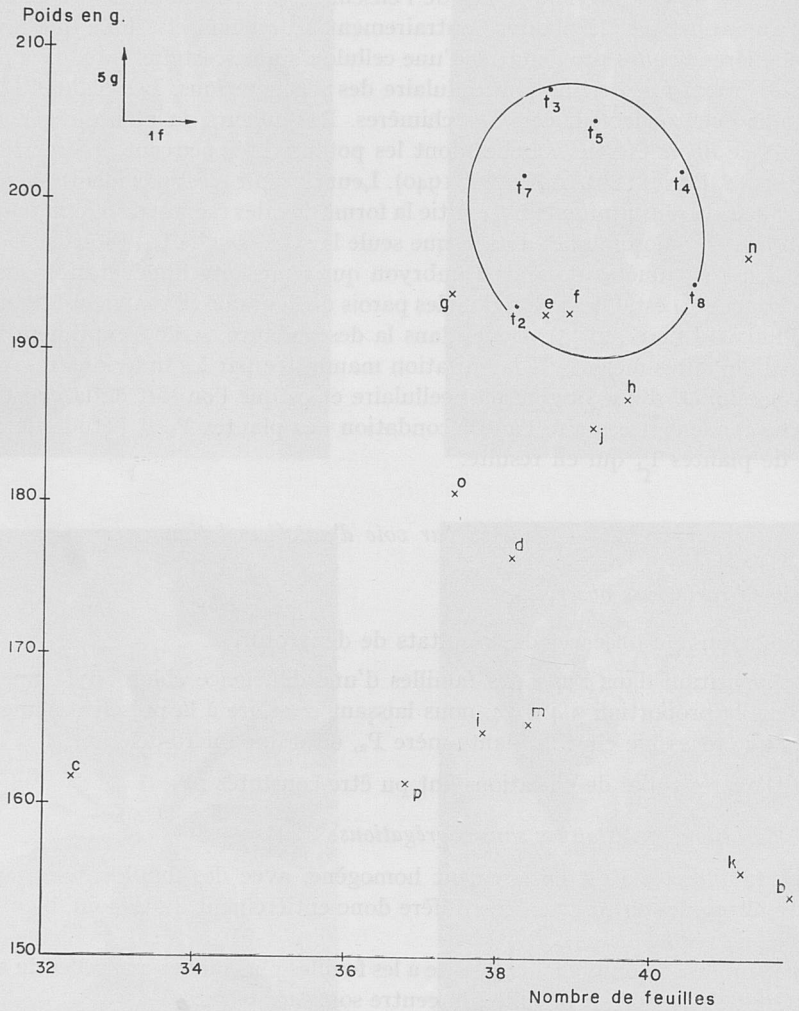


FIG. 3.

— Nombre de bourgeons axillaires développés et nombre de feuilles de ces bourgeons (fig. 4).

Contrairement aux témoins, où le développement des bourgeons axillaires est très rare, cette caractéristique se manifeste nettement chez la plupart des familles, elle est donc très spécifique des phénovariants.

Une étroite corrélation relie le développement des bourgeons et le nombre de feuilles de ces bourgeons, sauf pour *g* et *b*, et aussi pour *k* et *c*. Chez les deux premières

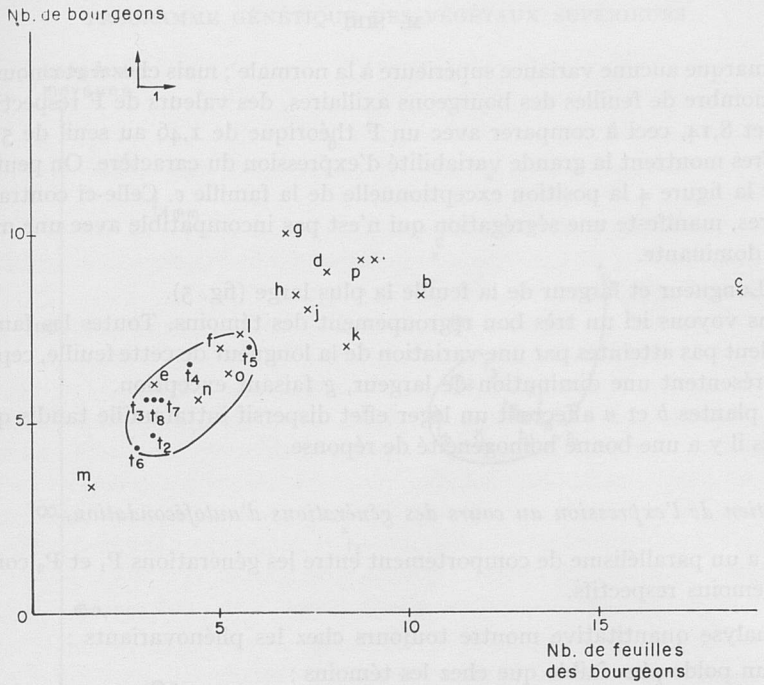

Nb. de bourgeons
1
1
10
5
0
5
10
15
Nb. de feuilles
des bourgeons

FIG. 4.

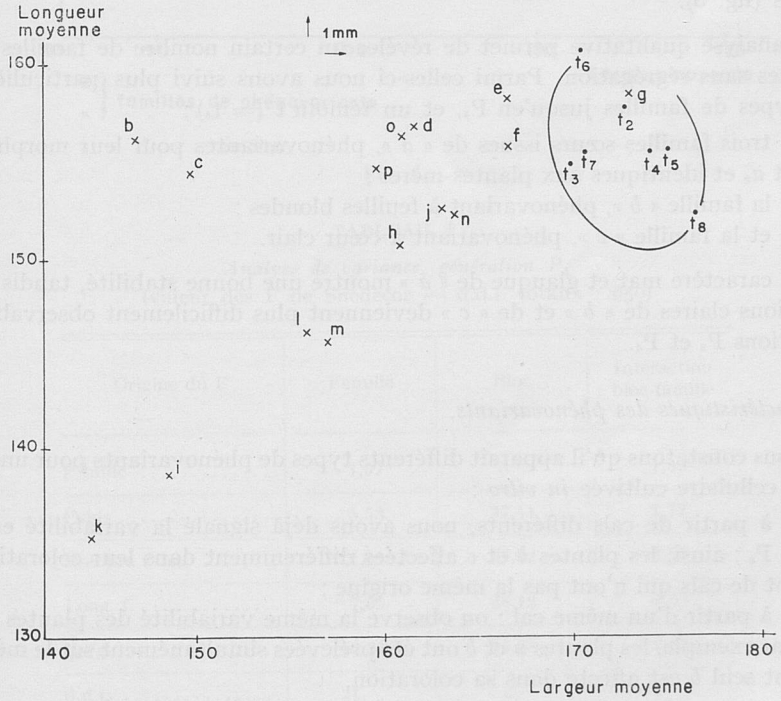

Longueur
moyenne
1mm
160
150
140
130
140
150
160
170
180
Largeur moyenne

FIG. 5.

on ne remarque aucune variance supérieure à la normale ; mais chez *k* et *c* nous notons pour le nombre de feuilles des bourgeons axillaires, des valeurs de F respectivement de 2,43 et 8,14, ceci à comparer avec un F théorique de 1,46 au seuil de 5 p. 100. Ces chiffres montrent la grande variabilité d'expression du caractère. On peut remarquer sur la figure 4 la position exceptionnelle de la famille *c*. Celle-ci contrairement aux autres, manifeste une ségrégation qui n'est pas incompatible avec une mutation génique dominante.

— Longueur et largeur de la feuille la plus large (fig. 5).

Nous voyons ici un très bon regroupement des témoins. Toutes les familles P_1 ne semblent pas atteintes par une variation de la longueur de cette feuille, cependant, toutes présentent une diminution de largeur, *g* faisant exception.

Les plantes *b* et *n* affectent un léger effet dispersif intrafamille tandis que chez les autres il y a une bonne homogénéité de réponse.

2. *Maintien de l'expression au cours des générations d'autofécondation.*

Il y a un parallélisme de comportement entre les générations P_1 et P_2 comparées à leurs témoins respectifs.

L'analyse quantitative montre toujours chez les phénovariants :

— un poids plus faible que chez les témoins ;

— un nombre de feuilles de rejet important ;

— une largeur et quelquefois une longueur de feuille inférieures à celles des témoins (fig. 6).

L'analyse qualitative permet de révéler un certain nombre de familles phénovariantes sans ségrégation. Parmi celles-ci nous avons suivi plus particulièrement trois types de familles jusqu'en P_4, et un témoin t ($= t_4$) ;

— trois familles sœurs issues de « *a* », phénovariantes pour leur morphologie : a_1, a_2 et a_3 et identiques aux plantes-mères ;

— la famille « *b* », phénovariant à feuilles blondes ;

— et la famille « *c* », phénovariant à cœur clair.

Le caractère mat et glauque de « *a* » montre une bonne stabilité, tandis que les colorations claires de « *b* » et de « *c* » deviennent plus difficilement observables aux générations P_3 et P_4.

3. *Caractéristiques des phénovariants.*

Nous constatons qu'il apparaît différents types de phénovariants pour une même souche cellulaire cultivée *in vitro* :

— à partir de cals différents, nous avons déjà signalé la variabilité entre les plantes P_0 ; ainsi, les plantes *b* et *c* affectées différemment dans leur coloration proviennent de cals qui n'ont pas la même origine ;

— à partir d'un même cal : on observe la même variabilité des plantes régénérées ; par exemple, les plantes *n* et *b* ont été prélevées simultanément sur le même cal, pourtant seul *b* est affecté dans sa coloration.

Ceci rappelle le fait signalé par WOLPERT (1969) : deux cellules d'un cal n'ont pas

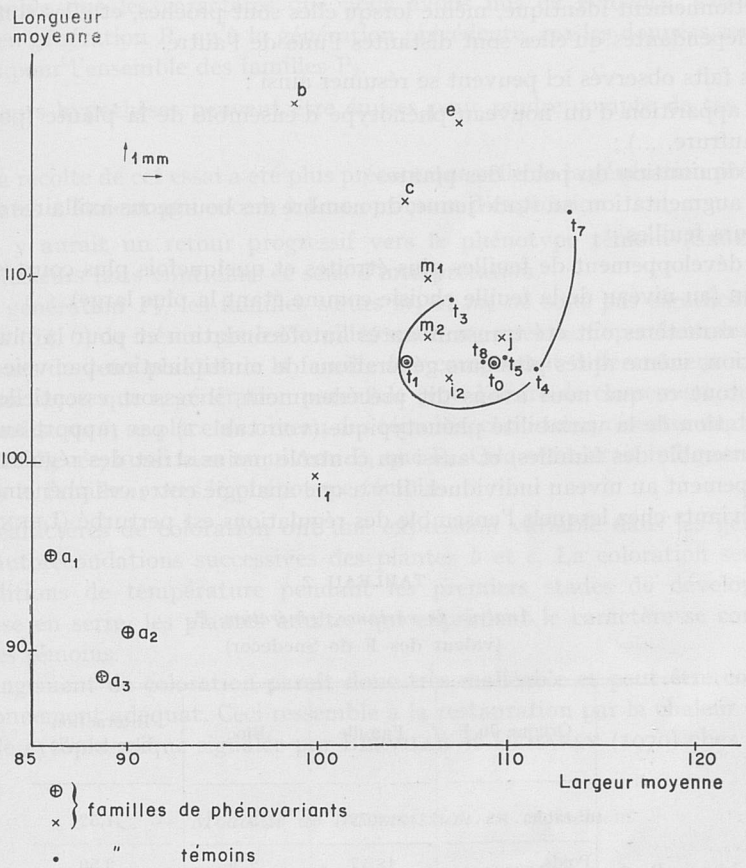


FIG. 6.

TABLEAU I

Analyse de variance, génération P_1

(valeur des F de Snedecor — d.d.l. totaux : 650)

Origine du F	Famille	Bloc	Interaction bloc-famille
F table	1,57	3	1,39
Poids	5,53	37,41	1,77
Nombre f. bg.	11,69	39,32	2,55
Long. f.	7,65	36,12	1,63
Larg. f.	10,34	15,58	2,22
d.d.l.	21	2	42

un fonctionnement identique, même lorsqu'elles sont proches, et elles sont d'autant plus indépendantes qu'elles sont distantes l'une de l'autre.

Les faits observés ici peuvent se résumer ainsi :

— apparition d'un nouveau phénotype d'ensemble de la plante (port, coloration, gaufrure, ...) ;

— diminution du poids des plantes ;

— augmentation, au stade jeune, du nombre des bourgeons axillaires développés et de leurs feuilles ;

— développement de feuilles plus étroites et quelquefois plus courtes que chez le témoin (au niveau de la feuille choisie comme étant la plus large).

Ces caractères ont été transmis après autofécondation et pour la plupart, sans ségrégation, même après plusieurs générations de multiplication par voie sexuée.

De tout ce que nous avons dit précédemment, il ressort essentiellement une augmentation de la variabilité phénotypique (voir tabl. 1) par rapport aux témoins pour l'ensemble des familles, et aussi un contrôle moins strict des régulations et du développement au niveau individuel. Il y a une analogie entre ces phénomènes et les phénodéviants chez lesquels l'ensemble des régulations est perturbé (LERNER, 1954).

TABLEAU 2

Analyse de variance, génération P_2
(valeur des F de Snedecor)

	Origine du F	Famille	Bloc	Interaction bloc-famille
P_{21} d.d.l. totaux 143	F table	1,75	3	1,52
	Poids	18,47	2,26	3,50
	Long. f.	10,20	6,28	3,13
	Larg. f.	6,43	11,79	1,78
	d.d.l.	4	2	8
P_{22} d.d.l. totaux 377	F table	2,37	3	1,94
	Poids	76,35	8,15	3,89
	Long. f.	26,73	4,21	1,58
	Larg. f.	48,90	11,29	2,46
	d.d.l.	12	2	24

N. B. P_{21} correspond aux familles a_1, a_2, a_3 issues de l'autofécondation de trois individus de la famille a, et aux témoins relatifs issus de t_0 et t_1, ces plantes ayant fait l'objet d'une analyse particulière. P_{22} correspond aux autres familles.

Il semble que les caractères que nous avons mis en évidence, soient moins marqués en génération P_2 qu'à la génération précédente, car les données sont moins dispersées pour l'ensemble des familles P_2.

Plusieurs hypothèses peuvent être émises pour rendre compte de ces observations :

1° La récolte de cet essai a été plus précoce que celle de la génération précédente, et les plantes n'étaient pas encore à leur optimum d'expression.

2° Il y aurait un retour progressif vers le phénotype témoin (SAGER, 1972, p. 221), plusieurs faits vont dans ce sens d'interprétation.

A la génération P_2, les familles sœurs m_1 et m_2 ne sont pas significativement différentes (fig. 6) de même que les familles sœurs a_1, a_2 et a_3. Cependant, les familles i_1 et i_2 issues de deux plantes de la famille i se comportent différemment : i_1 évolue de la même façon que i, génération parentale (voir l'ordre de classement des figures 5 et 6), tandis que i_2 se place au niveau des témoins, ceci, sans présenter de dispersion intrafamille élevée, aussi bien au niveau P_1 que P_2. Cela semblerait indiquer le retour en bloc de la famille i_2 vers le phénotype témoin.

Les caractères de coloration ont une expression variable dans les générations issues d'autofécondations successives des plantes *b* et *c*. La coloration semble liée aux conditions de température pendant les premiers stades de développement. Après mise en serre, les plantes adultes qui expriment le caractère se comportent comme les témoins.

Ce changement de coloration paraît donc très malléable et peut être corrigé par un environnement adéquat. Ceci ressemble à la restauration par la chaleur de la stérilité mâle cytoplasmique signalée par BERVILLÉ et DEMARLY (1970) chez l'Oignon.

C. — *Modalité de transmission en croisement*

Cette analyse a été réalisée sur les caractères relatifs à trois types bien discernables de phénovariants : « *a*, *b*, *c* » déjà décrits, et un témoin « *t* ». Un individu de chacune de ces familles a servi au croisement diallèle.

Les caractères de coloration n'ont pu être clairement observés à la génération de descendants P_4.

1. *Étude de la transmission du caractère distinctif de « a », feuille glauque et aplatie.*

Les résultats sont présentés dans les tableaux 3 et 5.

L'analyse diallèle montre que le parent « *a* » transmet ses caractères préférentiellement par voie maternelle.

Cependant l'intensité d'expression varie avec le père choisi pour le croisement, comme si l'apport fait par le grain de pollen modulait le phénotype « *a* ».

2. *Vigueur des descendants issus de ces croisements.*

Le tableau d'analyse diallèle 5 montre qu'il apparaît un gain de vigueur, mesuré par la surface de la première feuille dressée, après repiquage en pleine terre ; qu'il est transmis tant par voie paternelle que maternelle, et quels que soient les partenaires considérés.

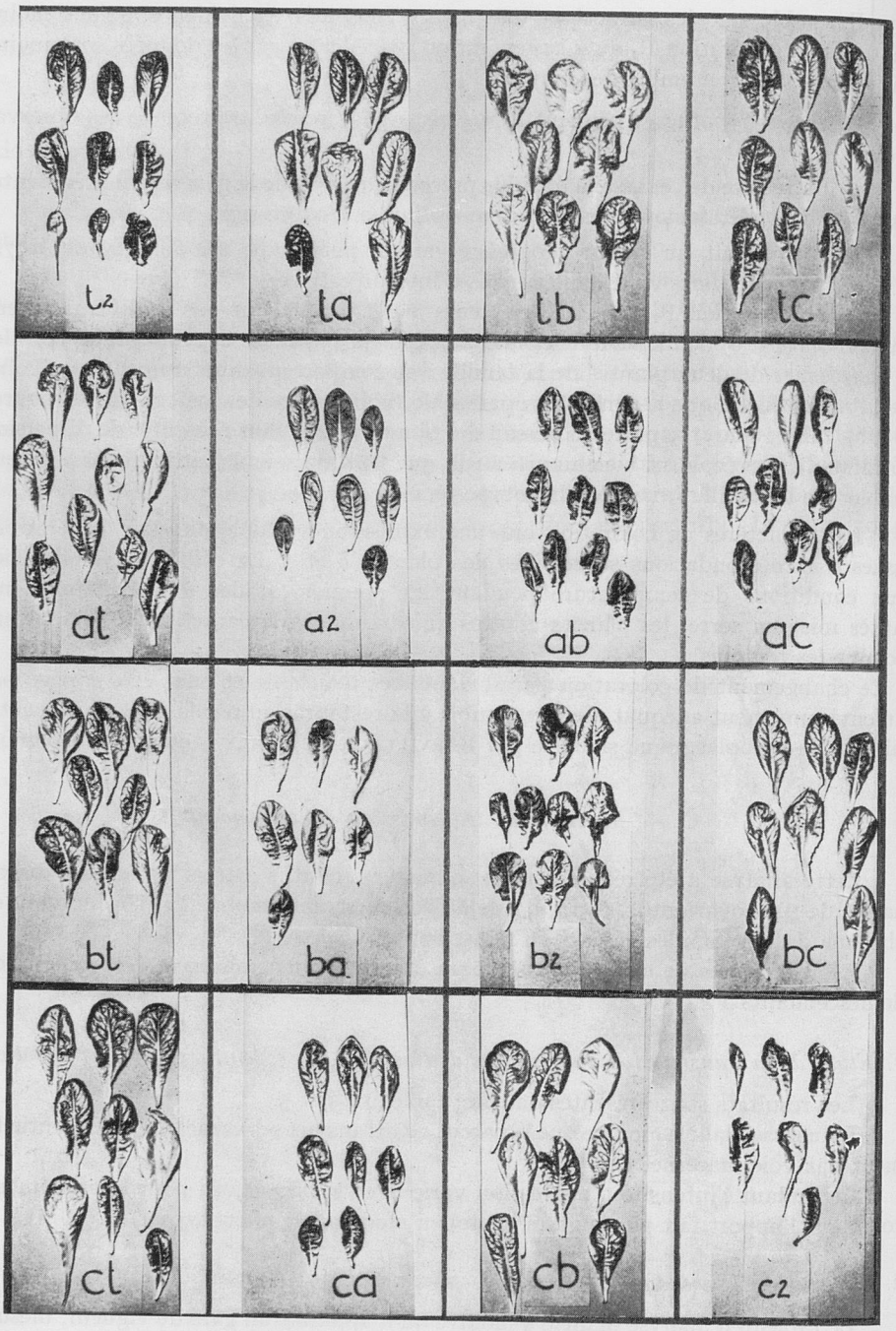


PLANCHE II

Présentation des feuilles issues du croisement diallèle et analyées (t_2, a_2... etc, sont les autofécondations).

La comparaison générale des moyennes, dans la figure 7, ne montre pas de groupe nettement différencié ; cependant le témoin, les autofécondations et la plupart des « cytohets » [1] issus de « *a* » se placent parmi les valeurs les plus basses du diagramme.

TABLEAU 3

Croisement diallèle : Moyennes caractère « feuille lisse »

♀	♂				
	t	*a*	*b*	*c*	Total
t	**0,30**	0,75	0,30	0,30	1,35
a	1,95	**2,70**	0,55	2,05	4,55
b	0,30	0,70	**0,70**	0,30	1,30
c	0,30	0,40	0,30	**0,30**	1,00
Total	2,55	1,85	1,15	2,65	8,20

Valeurs moyennes, après transformation par la fonction 2 arc sin $\sqrt{x}$ des pourcentages d'intensité du caractère « lisse », notés par rapport au phénovariant « *a* » (100 p. 100).

TABLEAU 4

Croisement diallèle : Moyennes « aire foliaire » (cm^2)

♀	♂				
	t	*a*	*b*	*c*	Total
t	**23,5**	32	39,5	30,5	102
a	29	**23**	22	29,5	80,5
b	31	25,5	**27,5**	32	88,5
c	41	26,5	39,5	**25**	107
Total	101	84	101	92	378

En outre, les descendants issus des croisements entre les parents « *t*, *b* et *c* » donnent des performances moyennes $\overline{C}i$ significativement supérieures à la moyenne $\overline{A}$ des autofécondations ; ces résultats sont mis en évidence par la figure 8.

[1] Le terme « cytohet » proposé par SAGER qualifie un individu issu du croisement de deux parents isogéniques mais à cytoplasmes différents.

TABLEAU 5

Croisement diallèle : Analyse des variances (F de Snedecor)

Critère	F			
	A.C.G.	A.C.S.	A.R.G.	A.R.S.
« Lisse »	11,400***	3,016	7,836***	3,590*
Aire	6,346***	1,029	1,395	2,412
F table (5 p. 100)	3,59	3,98	3,59	3,59

A = aptitude
C = à la combinaison
R = réciproque
G = générale
S = spécifique

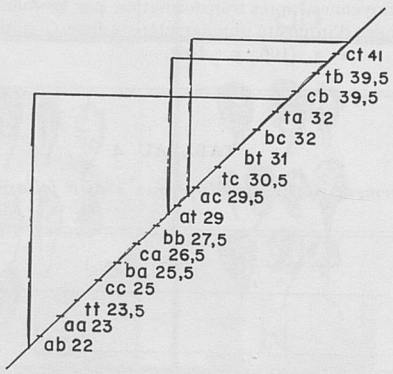


FIG. 7.

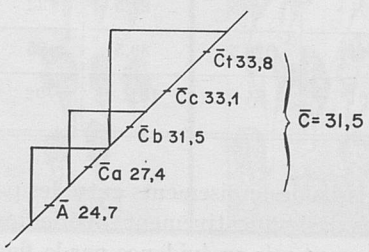


FIG. 8.

Par ailleurs, nous avons calculé le gain moyen de vigueur $\mathcal{G}$ pour chaque parent (i) pris comme père (♂), puis comme mère (♀), dans les croisements (C) avec les différents partenaires (j), par rapport à l'autofécondation (ii) de ce parent (voir tabl. 6) :

$$\mathcal{G}_{i♀} = \frac{\overline{C}i \times \cdot}{ii} \quad \text{et} \quad \mathcal{G}_{i♂} = \frac{\overline{C}\cdot \times i}{ii}$$

le 1er indice = ovule.
le 2e indice = pollen.

TABLEAU 6

Gain de vigueur des cytohets

Voie	$\mathcal{G}$			
	t	*a*	*b*	*c*
♀	**1,44**	1,16	1,07	**1,42**
♂	**1,43**	1,21	*1,22*	*1,22*

Nous constatons que ce gain de vigueur est très net chez les cytohets de « *t* », pour lesquels il est de 40 p. 100. Il est sensiblement le même quel que soit le sens de croisement. Cette augmentation se manifeste aussi pour les croisements réalisés sur le parent « *c* » avec une forte transmission par voie maternelle. Pour « *b* » et « *c* », par voie paternelle, il y a encore un gain de vigueur de 20 p. 100. Quant aux cytohets de « *b* » pris comme mère et de « *a* », dans les deux sens, leur gain de vigueur est nettement plus faible (de 7 à 20 p. 100).

D. — *Discussion*

Nous sommes amenés à poser deux questions essentielles, d'une part, quels sont les supports possibles qui permettent d'interpréter :

— fixation directe d'un ensemble de caractères nouveaux et maintien de ceux-ci pendant au moins quatre générations successives d'autofécondation ;

— apparition de vigueur chez les cytohets ;

— transmission symétrique ou dissymétrique selon le cas envisagé; d'autre part, quel est le lien entre le déterminisme des phénovariants et l'apparition de vigueur en croisement.

1. *Caractères nouveaux, fixés, et transmis par quatre générations d'autofécondation.*

La possibilité d'une fixation directe ne peut s'expliquer par la mutation de gènes du noyau puisqu'il n'y a pas de ségrégation (on a vérifié qu'aucune cellule du cal ne passait par le stade haploïde).

On ne peut cependant pas exclure le fait hautement improbable d'une mutation ou d'une délétion simultanée au même locus sur les deux chromosomes (il serait encore

plus improbable que le même type de phénomène ait eu lieu chez trois phénovariants en l'absence de sélection orientée dans ce sens).

Seul ce qui est épigénique et autoreproductible peut donc être impliqué dans la création de ces caractères héréditairement stables, soit :

— l'ensemble des membranes et le gel cytoplasmique (SONNEBORN, 1963), cytoplasme, membranes et organites pouvant intervenir par leur composition, leur organisation (propre ou relative) ou les deux ;

— les rythmes endogènes de biosynthèses qui correspondent à des équilibres biochimiques complexes en oscillation, et qui peuvent induire des situations épigéniques particulières à périodicité auto-entretenue. De tels rythmes pourraient jouer soit sur les protéines acides ; elles déterminent la spécificité et l'activité de lecture des gènes ; en outre, elles interviennent dans leur propre réplication ce qui permet à celles-ci d'avoir une reproduction conforme, maintenant tout changement qui aurait pu les toucher (MENUHAEN, 1974), soit sur tout mécanisme qui démasque des gènes silencieux ou qui induit une amplification génique.

Citons à titre d'exemple les études biochimiques de TIMMIS et INGLE (1973) sur des variants héréditaires de Lin obtenus par DURRANT (1971). Ces analyses fines ont permis de conclure à une amplification des gènes codant pour l'ARN ribosomal, chez les nouveaux types de plantes.

2. *Vigueur des cytohets.*

La vigueur hybride semble généralement liée à la dérépression génique, ou à la synergie et la coordination dans les régulations. Dans le cas d'hybridation, la vigueur s'explique en partie par les effets géniques, mais ce ne sont pas les seuls facteurs qui interviennent.

SARKISSIAN et MCDANIEL (1968) ont montré que le rendement du maïs hybride est étroitement lié à l'action synergique des types mitochondriaux apportés par chacun des parents. Ainsi, le polymorphisme des éléments cytoplasmiques semble jouer un rôle dans ce gain de vigueur.

Il est vraisemblable qu'une catégorie d'organites n'est pas homogène, mais constitue une population, comparable aux divers isozymes d'une espèce enzymatique. L'hérédité cytoplasmique a été étudiée par de nombreux auteurs, chez les micro-organismes, comme chez les végétaux supérieurs. Chez ces derniers, le grain de pollen, au moment de la fécondation, transmet son stock chromosomique, et aussi une faible quantité des différents types d'organites et structures cytoplasmiques, ainsi que les photos de VAZART (1971) permettent de le supposer.

A la suite du croisement, la confrontation de populations d'organites cytoplasmiques différentes, augmente l'hétérogénéité. On peut faire l'hypothèse avec DEMARLY (1975) que ce désordre cellulaire qui correspond, en termes de thermodynamique, à une augmentation d'entropie, peut s'exprimer par une activité métabolique plus intense chez l'individu nouvellement créé, et par de plus grandes potentialités d'adaptation aux facteurs externes, ce qui se traduit par un gain de vigueur.

Ainsi, chaque phénovariant pourrait posséder ses populations propres d'organites cellulaires, ses rythmes propres de biosynthèse répondant à des signaux épigéniques particuliers (DEMARLY, 1975), l'ensemble conduisant à un phénotype nouveau, reproductible d'une génération à l'autre.

Le croisement de ces individus à génome identique mais à cytoplasmes différents, produit des cytohets qui peuvent exprimer des caractères nouveaux, et aussi un effet de vigueur d'intensité variable selon les structures impliquées et leur comportement.

3. *Réponse variable en croisement.*

Les diverses situations zygotiques au moment de la fécondation peuvent être symbolisées comme le montre la figure 9. L'évolution ultérieure des situations zygotiques de chaque case va aboutir à différents types d'hérédité : expression dissymétrique des caractères transmis préférentiellement par l'une des voies sexuées, ou expression symétrique dans les croisements réciproques.

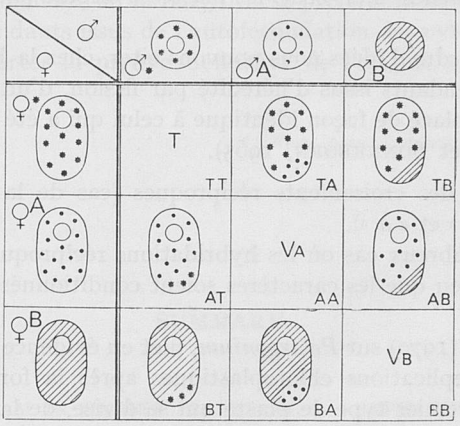


FIG. 9.

Schéma illustrant la structure initiale des divers « cytohets », au moment de la formation du zygote

T = * = témoin
A = · = variant A
B = //// = variant B

Les exemples suivants peuvent être tirés de la bibliographie. Ces divers documents pourraient expliquer les phénomènes observés, par des procédés analogues ou voisins :

a) hérédité cytoplasmique avec transmission préférentielle soit par le pollen soit par l'ovule (c'est le cas du caractère « glauque » de « *a* », ou de la vigueur moyenne des cytohets issus de « *b* » ou de « *c* »).

Dès la formation du zygote, les organites peuvent avoir une cinétique de reproduction différente selon qu'ils sont issus du père ou de la mère. Il peut aussi y avoir inhibition de la multiplication des organites de l'un des types parentaux, entraînant l'élimination de ceux-ci.

L'expérience de DIACUMAKOS, GARNJOBST et TATUM (1965) sur *Neurospora*, apporte des éléments dans ce sens : elle a consisté en une micro-injection de quelques mitochondries du mutant « poky » (croissance ralentie) dans une souche normale. Pendant les premiers repiquages, la croissance ne paraît pas être affectée, mais à partir du 10e transfert, il y a une diminution progressive de la vitesse de croissance

pour atteindre, au 15e repiquage, la même que celle de « poky ». Tout se passe comme si les mitochondries du mutant s'étaient multipliées rapidement et « substituées » aux autres.

Des faits semblables sont rapportés par CORRENS (1937) qui a étudié chez *Mirabilis* la transmission maternelle d'une déficience chlorophyllienne, par élimination des proplastes paternels.

Par ailleurs, l'organisation structurale du cytoplasme au moment de la fécondation peut déterminer la suite du développement (DEMARLY, 1975).

Ainsi, les travaux de CAMEFORT (1966-1974) sur le Pin montrent chez les Cupressacées la constitution d'un « néocytoplasme » amplifiant les quelques mitochondries du parent mâle apportées dans le cytoplasme de l'ovule au cours de la fécondation; et chez les Abiétacées la possibilité de transmission symétrique des mitochondries paternelles et maternelles, mais seuls les plastes d'origine paternelle subsistent dans le zygote.

Dans le même ordre d'idées nous pouvons citer, chez la Paramécie, la transmission à tous les descendants issus d'hérédité par fission, d'un lambeau inversé de la membrane externe, placé de façon identique à celui qui a été greffé sur la paramécie parentale (BEISSON et SONNEBORN, 1965).

b) Équivalence des croisements réciproques (cas de la vigueur moyenne des cytohets issus de « *t* » et « *a* »).

Il existe de nombreux cas où les hybridations réciproques donnent des descendances identiques bien que les caractères soient conditionnés par des facteurs cytoplasmiques.

TILNEY-BASSET (1970) sur *Pelargonium*, met en évidence l'action du cytoplasme sur les premières replications chloroplastiques après la formation du zygote, et l'inhibition par le premier type de plaste qui se divise, de la replication d'un autre type. Ainsi, les croisements réciproques entre une plante normale et un déficient chlorophyllien donnent tous deux : des plantes blanches, des plantes vert clair (replication simultanée d'un plaste vert et d'un blanc) et des plantes vertes, en proportions équivalentes.

D'autre part, lorsque les cinétiques de multiplication des organites paternels et maternels aboutissent à un équilibre, il ne se forme qu'une sorte de plantes dans les croisements réciproques.

SARKISSIAN et MCDANIEL (1966) montrent que les mitochondries d'hybrides réciproques de Blé donnent des taux de cytochrome-oxydase qui ne diffèrent pas significativement l'un de l'autre, et qui sont supérieurs à celui de chacun des parents.

IV. — CONCLUSION

A partir d'une variété améliorée et fixée, la régénération après culture de tissus a permis de révéler une variabilité n'entraînant aucune ségrégation en autofécondation, et ayant un effet défavorable en moyenne.

Aux cytohets issus du croisement de deux phénovariants, ou d'un phénovariant et du témoin, il s'est associé en moyenne un gain de vigueur qui peut s'interpréter

comme un effet d'hétérosis cytoplasmique permettant d'espérer l'introduction de vigueur dans une lignée pure.

Un ensemble de points reste à élucider et demanderait à être étudié. Il faudrait :

— préciser le niveau biologique impliqué dans chaque type de phénovariant,

— établir le temps de rémanence des divers caractères observables ou même voir qu'ils sont définitivement stabilisés,

— tenter d'induire des phénovariants d'aspect prévisible et homogène, par action d'agents perturbants spécifiques, ou éventuellement de les créer par micro-manipulation cellulaire,

— analyser le lien effectif entre un couple donné de phénovariants et la vigueur des cytohets qui en résultent ; ceci pourrait déterminer la possibilité de canaliser la vigueur d'une morphogenèse définie (par exemple, la surface foliaire, la coloration, une structuration particulière, ou la biosynthèse préférentielle d'une substance).

L'étude des descendants issus de l'autofécondation des cytohets » est en cours ; elle devrait nous apporter la preuve définitive de l'origine extranucléaire de ces phénomènes.

Reçu pour publication en juillet 1975.

SUMMARY

GENETIC PROGRAM IN HIGHER PLANTS. II. — EXPERIMENTAL ASPECT. PRODUCTION OF VARIANTS BY *IN VITRO* TISSUE CULTURE OF *LACTUCA SATIVA* L. INCREASE IN VIGOR IN OUT-CROSSES

In vitro tissue culture of *Lactuca sativa* L. ($2n = 18$) was attempted. The homozygous characteristics of the plants were checked.

The strains were kept from regenerating for several cycles, and then, environmental conditions were modified so that buds and plantlets could grow. The « P_0 » plantlets were removed and planted after roots emerged. Their shape was different from that of the check, though the chromosome number was identical. These plants were called « phenovariants ».

The progeny of the selfing of each « P_0 » plant was cultivated under natural conditions, in order to be compared with the check. It was observed that « P_1 » families were non-segregant and showed a decrease in weight, length and width of leaf, as well as an increase in the number of developed axillary buds, and a special shape (flat-leaved « *a* ») and color (blond « *b* » and clear centered « *c* »).

The « P_2 », « P_3 » and « P_4 » selfings remained similar for most of the observations.

Diallel crosses were effected between the « P_3 » phenovariants « *a*, *b*, *c* » and the check « t ». It appeared that the flatness characteristic was clearly the result of a maternal effect ; and that most kinds of « cytohets » proved to be more vigorous than the selfing. This increase in vigor was transmitted differently according to the type of parent.

All this suggests that *in vitro* tissue culture induces the growth of « P_0 » plants the phenotypes of which are different from the check's phenotypes. An increase in variability can be observed either in the special phenotypes that remain non-segregating for several generations by selfing, or in the general behavior of these plants.

Therefore it might be thought that changes occurring in the « P_0 » plant do not affect its nuclear DNA.

The production of different cytohets which are more vigorous than selfings must be tied in with various kinds of changes, depending on each parent used for the crosses.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Beisson J., Sonneborn T. M., 1965. Cytoplasmic inheritance of the organisation of the cell cortex in *Paramecium aurelia*. *Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **53**, 275.

Bervillé A., Demarly Y., 1970. La stérilité mâle cytoplasmique. *La stérilité mâle chez les plantes horticoles*. Réunion Eucarpia, Section horticole, C.N.R.A., Versailles, 147-167.

Britten R. J., Davidson E. N., 1969. Gene regulation for higher cells : a theory. *Science*, **165**, 349-357.

Bunisset C., 1972. *Étude de la néoformation d'organes* in vitro *sur le* Petunia hybrida. Thèse de troisième cycle. Laboratoire d'amélioration des plantes-Orsay.

Camefort H., 1974. Fécondation chez le Pin : formation d'un « néocytoplasme ». Exposé au C.N.R.A. de Versailles.

Correns C., 1937. *Nicht Mendelnde Vererbung*. in *Handbuch der Vererbungs-Wissenschaft*, F. von Wettstein ed., Gerbrüder Borntraeger, Berlin, **22**, 277 p.

Dagnélie P., 1970. *Théories et méthodes statistiques* (2 vol.) Presses agronomiques de Gembloux. Éd. J. Duculot, Gembloux, 378 et 451 p.

Demarly Y., 1972. Régulation et hétérosis. *Ann. Amélior. Plantes*, **22** (2), 143-166.

Demarly Y., 1973. *Les systèmes génétiques*. Publication interne, Laboratoire d'amélioration des plantes, Orsay.

Demarly Y., 1975. Considérations théoriques sur la concurrence chez les végétaux. *Ann. Amélior. Plantes*, **25** (1), 65-83.

Demarly Y., 1976. La notion de programme génétique chez les végétaux supérieurs. I. Aspect théorique. *Ann. Amélior. Plantes*, **26** (2), 117-138.

Diacumakos E. G., Garnjobst L., Tatum E. L., 1965. A cytoplasmic character in *Neurospora crassa*. The role of nuclei and mitochondria. *J. Cell Biol.*, **26**, 427-443.

Durrant A., 1971. Induction and growth of flax genotrophs. *Heredity*, **27**, 277-278.

Duncan D. B., 1955. Multiple range and multiple F tests. *Biometrics*, **11**, 1-42.

Gautheret R. J., 1959. *La culture des tissus végétaux*. Masson et Cie, Paris, 863 p.

Griffing B., 1956. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Austr. J. biol. Sci.*, **2**, 465-493.

Heinz O. J., Mee G. W. P., 1969. Creating variability through callus tissue cultures. *6th Ann. Rep. Hawaiian sugar Planter's Association*. (Expt. Stn).

Heinz D. J., Mee G. W. P., 1971. Morphologic cytogenetic, and enzymatic, variation in *Saccharum* species hybrid clones, derived from callus tissue. *Am. J. Bot.*, **58** (3), 257-262.

Lerner I. M., 1954. *Genetic homeostasis*. Oliver and Boyd, Edinburgh, 134 p.

Lerner I. M., 1958. *The genetic basis of selection*. John Wiley and Sons, New York, 298 p.

Luck D. J. L., 1965. Formation of mitochondria in *Neurospora crassa*. *J. Cell Biol.*, **24**, 461-470.

Lutz A., 1969. Étude des aptitudes morphogénétiques des cultures de tissus. Analyse par la méthode des clones d'origine unicellulaire. *Rev. gén. Bot.*, **76**, 309-359.

McDaniel R. G., Sarkissian I. V., 1968. Mitochondrial heterosis in Maize. *Genetics*, **59** (4), 465-475.

McDaniel R. G., Sarkissian I. V., 1966. Heterosis : complementation by mitochondria. *Science*, **152**, 1640-1642.

Melhquist G. A. L., Geissman T. A., 1947. Inheritance in the carnation (*Dianthus caryophyllus*). III. Inheritance of flower color. *Ann. Missouri bot. Garden*, **34**, 39-74.

Menuhaen N., 1974. Rôle des protéines acides sur le génome de *Dictyostelium discoïdeum*. Rencontre Morion-Méribel avril (non publié).

Mousseau J., 1971. Fluctuation induite par la néoformation de bourgeons *in vitro*. *Culture des tissus de plantes*, Strasbourg 6-10 juillet 1970. Colloque international du C.N.R.S., 293., Paris, 235-239.

Pelletier G., Pelletier A., 1971. Culture *in vitro* de tissus de Trèfle blanc (*Trifolium repens*) ; variabilité des plantes régénérées. *Ann. Amélior. Plantes*, **21** (2), 221-233.

Pereau-Leroy P., 1975. *Recherches radiobiologiques sur des chimères d'œillet*, Dianthus caryophyllus L. Thèse de Docteur ès Sciences, Université de Clermont-Ferrand, Série E, n° 199.

Picard E., 1974. *Mise au point de l'androgenèse* in vitro *chez le Blé tendre* (Triticum aestivum *L. M. thell.*) *pour l'obtention de plantes haploïdes*. Thèse de troisième cycle. Laboratoire d'amélioration des plantes, Orsay, 85 p.

Rives M., 1959. Sur la comparaison des moyennes dans les essais variétaux. *Ann. Amélior. Plantes* **9** (3), 357-376.

Sagawa Y., Melhquist G. A. L., 1957. The mechanism responsible for some X-Ray induced changes in flower color of the carnation, *Dianthus caryophyllus*., *Am. J. Bot.*, **44** (5), 397-403.

SAGER R., 1972. *Cytoplasmic genes and organelles.* Academic Press, New York, 405 p.

SATINA S., BLAKESLEE A. F., AVERY A. G., 1940. Demonstration of the three germ layers in the shoot apex of *Datura* by means of induced polyplidy in periclinal chimeras. *Am. J. Bot.*, **27**, 895-905.

SAUNDERS G. W., *et al.*, 1971. Mitochondrial genetics in yeast. In « *Autonomy and biogenesis of mitochondria and chloroplast* ». *Aust. Acad. Sci. Symp.*, North Holland Publ., Amsterdam.

SONNEBORN J. M. 1963. Does preformed cell structure play an essential role in cell heredity? In « *The nature of biological diversity* ». *J. M. Allen Ed.*, 165-221, MCGRAW-HILL, New York.

TILNEY, BASSET R. A. E., 1970. The control of plastid inheritance in *Pelargonium*. *Genet. Res.*, **16**, 49-61.

TIMMIS J. N., INGLE J., 1973. Environmentally induced changes in RNA gene redundancy. *Nature, new Biology*, **244**, 235-236.

THOM R., 1972. *Stabilité structurelle et morphogenèse.* Mathematical physics monograph series : A. S. Wigtman, Ed.

VAZART B., 1971. *Nicotiana tabacum* : maturation du pollen ; synthèse des réserves, nature chimique de la paroi de la cellule génératrice. *Science, IV* (3), 134-142.

WADDINGTON C. H., 1968. *Toward a theoretical biology.* Prolegomena. An IUBS Symposium, C. H. Waddington Ed.

WOLPERT L., 1969. Positional information and the spatial pattern of cellular differentiation. *J. theor. Biol.*, **25**, 1-47.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (4), 549-563.

ÉVOLUTION DE LA STÉRILITÉ MÂLE CYTOPLASMIQUE DANS LES POPULATIONS D'OIGNON

E. BERNINGER

Station d'Amélioration des Plantes florales, I. N. R. A., 83600 Fréjus

RÉSUMÉ

Les fréquences des facteurs cytoplasmique S et génique *ms*, déterminant la forme classique de stérilité-mâle chez l'Oignon, sont très variables d'une population à l'autre. Ayant constaté un avantage sélectif apparent des plantes mâles-stériles par rapport à leurs voisines mâles-fertiles, l'auteur développe quelques conséquences théoriques de cette situation dans l'évolution des populations, et envisage les mécanismes qui permettraient d'éviter l'extinction de l'allèle *ms* ou du cytoplasme N.

INTRODUCTION

La stérilité mâle est un caractère très commun dans les variétés locales d'Oignon, en ce sens que, lors des prospections dans les champs de porte-graine, dans la plupart des régions où ces études sont menées, on trouve un pourcentage appréciable (0,5 à 10 p. 100) d'individus mâles-stériles (1).

L'analyse génétique des descendances confirme en général le déterminisme classique cytoplasmique et génique, de la forme stérile. En présence du cytoplasme N, « neutre » plutôt que « normal », le caractère récessif *ms* ne s'exprime pas.

Seule la formule *S ms ms* est stérile.

On connaît également un déterminisme cytoplasmique et génique plus complexe et plus rare que nous avons appelé système T (Berninger, 1965 ; Schweisguth, 1973), ainsi que des cas de stérilité mâle apparaissant plus particulièrement dans les descendances autofécondées. Le déterminisme dans ce cas-là est souvent de type unifactoriel récessif.

(1) Dans la suite du texte, les termes stérile et fertile sont employés pour mâle-stérile et mâle-fertile.

Dans cette étude, nous n'envisagerons que l'évolution des facteurs courants S (cytoplasme) et *ms* (gène).

Au cours des prospections faites à partir de 1962 dans les champs grainiers de nombreuses variétés françaises, et sur des effectifs plus restreints de variétés diverses introduites à Versailles, nous avons déterminé la proportion de plantes stériles dans les populations.

Le système de reproduction de l'espèce a été étudié et le taux d'autogamie des plantes normales déterminé dans diverses conditions (BERNINGER et BURET, 1967).

Ce taux d'autogamie a été trouvé voisin de 5 à 15 p. 100 dans les conditions des champs de production grainière du Midi et d'Anjou (1965 et 1966), alors qu'on l'estimait les mêmes années entre 6 et 45 p. 100 selon les plantes (moyenne 25 p. 100) pour les floraisons du champ de porte-graine de Versailles.

I. — ÉTUDE DE LA FRÉQUENCE DES FACTEURS *S* ET *MS*

A. — *Étude théorique*

Dans le cas d'une population en fécondation libre, dans laquelle le déterminisme de cette stérilité est uniquement classique (*S* et *ms*), la connaissance du taux X de stériles dans la population (génotype *S ms ms*) et de l'effectif Z de stériles apparaissant dans la descendance des seuls individus mâles-stériles permet de déterminer les valeurs des fréquences caractéristiques :

$$\begin{array}{l} \text{P de } S \text{ et Q de N} \quad (P + Q = 1) \\ p \text{ de } ms \text{ et } q \text{ de } Ms \ (p + q = 1) \end{array}$$

En effet Z est le reflet de la fréquence p de *ms* dans la population de pollen émise par les plantes fertiles, puisque la descendance des stériles est le résultat de fécondations

$$\begin{array}{l} \text{ovules } S\,ms \times \text{pollen } ms \rightarrow \text{zygotes } S\ ms\,ms \text{ (stériles)} \\ \text{ovules } S\,ms \times \text{pollen } Ms \rightarrow \text{zygotes } S\ Ms\,ms \text{ (fertiles)} \end{array}$$

(en l'absence de supériorité des grains de pollen porteurs de l'un ou l'autre allèle, ce qui est une hypothèse vraisemblable, car les résultats obtenus en back-crosses ont toujours été très proches de 1 : 1, et si aucun des phénotypes fertiles n'émet plus ou moins de pollen que les autres).

Si nous admettons dans une hypothèse simplificatrice que la population satisfait aux conditions de panmixie, sa structure à l'équilibre doit être (loi de Hardy-Weinberg) le développement de l'expression :

$$\begin{array}{c} \text{ovules } [Pp\ (Sms) + Qp\ (Nms) + Pq\ (SMs) + Qq\ (NMs)] \\ \text{X gamètes mâles } [p'\ (ms) + q'\ (Ms)] \end{array}$$

Les fréquences p' et q' dans la population de pollen sont plus précisément :

pour les parents à cytoplasmes N : $Q\ [p\ (ms) + q\ (Ms)]$
pour les parents à cytoplasmes S : $P\ [pq\ (ms) + q\ (Ms)]$
soit au total : $(P + Q)\ q\ (Ms) + (Pq + Q)\ p\ (ms) = q\ (Ms) + p\ (1 - Pp)\ (ms)$

Ces fréquences sont à diviser par le terme correctif $(1 - Pp^2)$

Fréquence des génotypes.

$$S\ ms\ ms = \frac{P p^2 (1 - P p)}{T} \text{ où } T = 1 - P p^2$$

$$N\ ms\ ms = \frac{Q p^2 (1 - P p)}{T}$$

$$S\ Ms\ ms = \frac{P p q (2 - P p)}{T}$$

$$N\ Ms\ ms = \frac{Q p q (2 - P p)}{T}$$

$$S\ MsMs = \frac{P q^2}{T}$$

$$N\ Ms\ Ms = \frac{Q q^2}{T}$$

L'approximation : fréquence ($S\ ms\ ms$) = X $\neq$ $P p^2$ (ou $P Z^2$) est acceptable si le taux d'autogamie est faible, et si $P p^2$ et $P p$ sont des fréquences suffisamment faibles pour que $\frac{1 - P p}{1 - P p^2}$ reste voisin de 1.

B. — *Résultats pratiques*

Ainsi, avec les caractéristiques X = 0,01 et Z = 0,20 trouvées dans une population de « Rouge foncé des Ardennes », on calcule :

$$P = X / Z^2 = 0{,}25$$

et la population doit avoir les paramètres suivants :

$$p = 0{,}20 \qquad q = 0{,}80$$
$$P = 0{,}25 \qquad Q = 0{,}75$$

Lorsqu'on suit en autofécondation et « test A » (recherche des génotypes *N ms ms* « mainteneurs » de stérilité) un nombre suffisant de descendants de la population étudiée, il est possible de vérifier et préciser la valeur de ces estimations (tabl. 1).

TABLEAU I

Estimations de P et p d'après nos dénombrements de mâles-stériles dans les populations et l'observation de leurs descendances

Population	P de S	*p* de *ms*	Fréquence de *S ms ms*
« Jaune d'Auxonne »	faible < 0,10	0,70 à 0,80	< 0,05
« Jaune Stuttgart Riesen »	faible < 0,10	< 0,60	< 0,05
« Jaune de Zittau »	faible < 0,20	0,60	≤ 0,05
« Jaune paille des Vertus »	moyen env. 0,50	0,10 à 0,30	env. 0,03
« Jaune de Sélestat »	moyen env. 0,50	0,30 à 0,40	env. 0,05
« Rosé de Bretagne »	fort 0,70 à 0,80	0,40	0,12
« Rosé de Niort »	fort 0,75	0,15 à 0,25	0,03
« Jaune de Rovigo »	fort 0,60 à 0,70	> 0,60	0,25

II. — OBSERVATIONS COMPARÉES DE PLANTES MÂLES-STÉRILES ET MÂLES-FERTILES

La floraison, la maturation des graines, les caractéristiques propres des semences et leur germination ont été observées à Versailles de 1964 à 1967.

On a marqué dans le champ de porte-graine les mâles-stériles de toutes origines apparus dans des populations ou des croisements de vigueur normale (donc sans utiliser les descendances en autofécondation).

Ces plantes ont été comparées chacune à une mâle-fertile contiguë de même origine, réalisant des couples d'observations, analysés statistiquement pour les caractères mesurables. Les porte-graine sont disposés en lignes, à 20 cm environ sur les lignes espacées de 2 m. Lorsque les stériles sont peu fréquents, chacun d'eux est en général encadré de 2 plantes normales. On choisit systématiquement celle de droite si les plantes sont d'égale vigueur, ou bien celle dont le développement est le plus comparable à la stérile, en cas de disproportion marquée. On a ainsi observé en 1964, 1965, 1966 et 1967 respectivement : 19, 42, 44 et 49 couples.

Notations

a) Nombre de graines formées par fleur (en théorie, on trouve au maximum 6 graines par capsule (2 par loge) ;

b) Poids de 100 graines ;

c) Taux et vitesse de germination (seulement en 1965 et 1967) ;

d) Poids de graines récolté par plante (seulement en 1966 et 1967) d'où estimation du nombre théorique de graines par plante ;

e) Aspect sanitaire, vigueur, nombre de hampes florales par plante (en 1966 et 1967).

f) Date de déhiscence des capsules.

Résultats

Les caractères *a* et *b*, dans une moindre mesure *d* et *f*, se montrent différents dans les deux catégories, constamment à l'avantage des stériles (tabl. 2 pour les caractères *a*, *b* et *d*). Ceux-ci ont donc des capsules mieux garnies, des graines plus grosses, un poids de graines par plante plus élevé, une déhiscence plus précoce de 2 ou 3 jours (la déhiscence intervient moins de 2 mois après la floraison).

Pour la germination (caractère *c*), l'avantage des stériles fut de 2 à 3 p. 100 en 1966. En 1965, on notait moins de graines échaudées parmi eux. Par contre aucune différence n'apparut en 1967.

Pour les caractères notés en *e*) aspect sanitaire, vigueur et nombre de hampes, la variation était considérable dans les deux catégories, et les moyennes calculées non différentes.

Discussion

1. Il semble y avoir une limitation, probablement d'ordre nutritionnel, à la supériorité en production de graines des stériles ; les supériorités pour les caractères nombre de graines par fleur et poids de 100 graines varient en sens contraire d'une

année à l'autre. D'autre part, la quantité de graines produites par les stériles semble peu différente de celle de plantes « normales » mais ces graines sont plus grosses et peut-être meilleures.

TABLEAU 2

Rapport des caractéristiques mesurées sur plantes mâles-stériles et mâles-fertiles (*ms* en pourcentages de *mf*)

Caractéristiques $(ms/mf) \times 100$	1964	1965	1966	1967
a) Nombre de graines par fleur ..	105,9*	108,5**	112,2**	119,6**
b) Poids de 100 graines	113,7*	111,5*	108,8*	104,7
c) Poids de graines par plante ..			111,1	106,0
d) Nombre théorique de graines par plante ..... $\left(\frac{\text{poids total récolté}}{\text{poids de 100 graines}}\right)$			$\frac{2000}{1906} = 104,9$	$\frac{3749}{3696} = 101,2$

* Différence significative à p 0,05.
** Différence significative à p 0,01.

2. La meilleure fécondité des mâles-stériles est à rapprocher :

a) des styles plus longs observés presque toujours chez les fleurs de ceux-ci. Les styles dépassent nettement la corolle, et ce dispositif pourrait faciliter la pollinisation entomophile, ou réduire les risques de lavage du stigmate par la rosée. Ces fleurs paraissent parfois plus riches en nectar, mais cette observation n'a pas été suivie de tentatives de mesure.

b) De l'absence d'autopollen : l'autofécondation forcée de mâles-fertiles dans une cage ou un sachet, dans lequel sont introduites des mouches, donne en général de bons résultats, mais en pollinisation libre on note un taux de fécondation croisée de 70 à 90 p. 100 qui semble augmenter avec la température ou l'ensoleillement (facteurs agissant sur les germinations polliniques et sur l'activité des insectes). On pourrait supposer qu'une fraction de l'autopollen, par sa présence, gêne l'évolution d'allopollen apporté par la suite, pour expliquer la moindre fécondité des plantes normales.

3. La grosseur supérieure des graines de stériles est déjà sensible à l'œil.

a) S'agit-il seulement d'un effet d'hétérosis ? Il n'est pas possible de comparer le poids de graines autofécondées sous sachets (risque d'échaudage) avec le produit de croisements à l'air libre. Nous n'avons donc pas de comparaison expérimentale entre graines autofécondées et allofécondées (avec peut-être compétition entre pollens d'origines diverses). Alors que l'ensemble des graines récoltées sur les stériles est d'origine hybride, chez les fertiles, à Versailles, 25 p. 100 en moyenne des graines sont issues d'autofécondation. Une différence de poids de 20 p. 100 entre les graines hybrides (lourdes) et autofécondées (légères) rendrait alors compte d'une supériorité

des lots de semences produites par les stériles de 0,25 × 0,20 = 0,05 soit 5 p. 100. Or la supériorité constatée 4 ans de suite allait de 5 à 13 p. 100.

b) On peut aussi penser que les fleurs stériles, qui n'assurent l'évolution des anthères que jusqu'au stade tétrades, disposent d'un surplus en métabolites pour les graines en formation. Ces métabolites supplémentaires pourraient aussi prolonger la période de réceptivité du style et expliquer la meilleure fécondité observée (Y. Demarly, communication personnelle).

L'écart de 2-3 jours à maturité en faveur des stériles peut aussi s'expliquer par de simples raisons physiques : avec des graines plus grosses, les capsules sont plus distendues.

Un avantage analogue des stériles pour les caractères : fertilité, grosseur de graines et précocité de déhiscence, a été noté pour un échantillon plus restreint de plantes du système T comparées à des plantes normales non T.

Ces avantages pourraient donc constituer une caractéristique assez générale des mâles-stériles indépendante du déterminisme génétique même de la stérilité.

Finalement, les nombres de descendants laissés par la moyenne des plantes stériles et fertiles dans de bonnes conditions de culture (floraison, maturation des graines, puis semis) ne sont pas très différents. L'élimination des descendants issus d'autofécondation est un facteur plus certain de disparité.

Par contre, en conditions défavorables, les avantages de fertilité, maturation, qualité des semences des mâles-stériles pourraient se montrer beaucoup plus considérables ; mais il est impossible de les estimer ici.

III. — ÉTUDE DE L'ÉVOLUTION DES FACTEURS

A. — *Étude théorique*

Cette étude a été faite et publiée par différents auteurs, notamment Lewis (1941), Watson et Caspari (1960), Valdeyron *et al.* (1970), Ross *et al.* (1971, 1973, 1975).

Nous chercherons à rapprocher ces résultats théoriques des données réelles. Dans l'hypothèse d'une reproduction panmictique de tous les composants de la population, avec évidemment élimination des gamètes mâles que produirait le génotype *S ms ms*, l'évolution mène à l'extinction de l'allèle de stérilité, lequel ne peut se maintenir, à des fréquences d'ailleurs faibles, qu'en raison de son taux d'apparition par mutation :

Une perte de $Pp^2/2$ allèles *ms* à chaque génération sera compensée par le taux de mutation μ quand :

$$\mu = Pp^2/2 \qquad \text{d'où } p = \sqrt{\frac{2\mu}{P}}$$

Pour un taux « raisonnable » μ de $1 \cdot 10^{-5}$ et une valeur $P = 0{,}10$ on trouve : $p = 0{,}014$ ce qui assure un taux Pp^2 voisin de 0,00002. Dans une telle situation la détection de mâles-stériles dans les populations devient très improbable. Nos résultats courants montrent une fréquence mille fois supérieure à $1 \cdot 10^{-5}$. Nous

avons même observé chez l'Oignon des populations dont près de la moitié des effectifs était mâle-stérile.

Dès lors, la diminution de fréquence de *ms* devrait être très importante :

— ou bien ces situations sont tout à fait instables et de telles populations doivent évoluer vers un taux modéré à faible de stériles,

— ou bien des mécanismes compensateurs assurent le maintien des fréquences en individus *S ms ms*, ou mieux celles des facteurs *S* et *ms*.

Nous avons vu qu'au niveau des gamétophytes mâles, il ne semblait pas y avoir d'avantage pour les pollen porteurs de l'allèle *ms* (on obtient bien 1 : 1 en back-crosses) mais au niveau des sporophytes, des avantages pour les plantes *S ms ms* ont été observés.

L'avantage le plus évident des mâles-stériles découle du taux d'autogamie — variable semble-t-il selon la situation géographique et climatique — des plantes normales : la dépression de vigueur en consanguinité est effectivement très sensible. Si les individus issus d'autogamie sont incapables de survivre en compétition, d'être retenus comme porte-graine pour la génération suivante, la proportion des descendants laissée par chaque mâle-stérile par rapport à chaque mâle-fertile sera multipliée par :

$$\frac{1}{1-s} \qquad (s = \text{taux d'autogamie})$$

ce facteur prend la valeur 1,33 pour $s = 0{,}25$
et la valeur 1,11 pour $s = 0{,}10$

Cet avantage multiplie celui déjà mesuré du nombre de graines laissées par chaque plante (1,01 à 1,05).

La disparition des zygotes issus d'autofécondation permet aussi de continuer cette étude dans le cadre de la panmixie.

Le calcul de la valeur d'un avantage sélectif [1] α des géniteurs mâles-stériles tels que les proportions p et q ne varient pas au cours des générations, a été fait dans de nombreux cas, entre autres par les auteurs déjà cités.

Ainsi, dans la situation du tableau 3, dans le cas d'une stérilité mâle génique simple (*aa* = mâle-stérile) également valable si notre population ne possède que le cytoplasme *S*, l'équilibre p/q n'est maintenu par le seul avantage α que si $\alpha = 1 + \frac{1}{1-2p^2}$ où p^2 représente la fréquence du type stérile.

Lorsque N et S interviennent, on trouve la fréquence d'équilibre :

$$\alpha = 1 + \frac{1}{1 - 2\,\mathrm{P}p^2}$$

où $\mathrm{P}p^2$ représente encore la fréquence du type stérile. On voit que α doit toujours être supérieur à 2.

[1] Par définition, l'avantage sélectif d'un individu particulier est le rapport du nombre de descendants en génération G_1 laissé par cet individu de la génération G_0, au nombre moyen de descendants de l'ensemble de la population G_0.

A l'équilibre, chaque individu hermaphrodite laisse en moyenne un descendant, ou deux gamètes effectivement reproducteurs.

TABLEAU 3

Panmixie dans une population porteuse de stérilité-mâle Situation des avantages sélectifs A et K

Génotypes parentaux femelles ↓	Fréquence → ↓	Avantages → ↓	mâles → Gamètes → ↓	*Smsms*	S *Msms*		*S MsMs*	*N msms*	*N Msms*		*N MsMs*
				P p^2	P 2 pq		P q^2	Q p^2	Q 2pq		Qq^2
				O	1		1	K	1		1
					ms	*Ms*	*Ms*	*ms*	*ms*	*Ms*	*Ms*
S msms	Pp^2	A	*Sms*	/	*Smsms*	*S Msms*	*SMsms*	*Smsms*	*Smsms*	*SMsms*	*SMsms*
S Msms	P 2 pq	1	*Sms*	/	*Smsms*	*SMsms*	*SMsms*	*Smsms*	*Smsms*	*SMsms*	*SMsms*
			SMs	/	*S Msms*	*SMsMs*	*SMsMs*	*SMsms*	*SMsms*	*SMsMs*	*SMsMs*
S MsMs	Pq^2	1	*SMs*	/	*S Msms*	*SMsMs*	*SMsMs*	*SMsms*	*SMsms*	*SMsMs*	*SMsMs*
Nmsms	Qp^2	1	*Nms*	/	*Nmsms*	*NMsms*	*NMsms*	*Nmsms*	*Nmsms*	*NMsms*	*NMsms*
NMsms	Q 2pq	1	*Nms*	/	*Nmsms*	*NMsms*	*NMsms*	*Nmsms*	*Nmsms*	*NMsms*	*NMsms*
			NMs	/	*NMsms*	*NMsMs*	*NMsMs*	*NMsms*	*NMsms*	*NMsMs*	*NMsMs*
NMsMs	Qq^2	1	*NMs*	/	*NMsms*	*NMsMs*	*NMsMs*	*NMsms*	*NMsms*	*NMsMs*	*NMsMs*

Le quart supérieur gauche du tableau est la situation d'une population entièrement sur cytoplasme S, ou d'une stérilité uniquement génique récessive.

Si les stériles laissent 3 fois plus de descendants que les individus fertiles, leur fréquence sera de 0,25 ; si α est très voisin de 2, la fréquence de p^2 ou Pp^2 reste faible.

Cependant, aucun résultat expérimental ne nous laisse espérer trouver chez les stériles un avantage α en production de graines puis d'individus viables aussi considérable.

D'autre part, dès que le génotype *S ms ms* laisse plus de descendants que les autres génotypes, la fréquence P du cytoplasme S doit augmenter. L'équilibre n'est donc pas réalisé par cette seule voie.

Nous allons donc rechercher si un avantage K des pollinisateurs *N ms ms* n'est pas suffisant pour établir l'équilibre et, s'il est établi que les porte-graine *S ms ms* ont bien un avantage α, il faut imaginer un phénomène qui puisse s'opposer à l'envahissement de la population par le cytoplasme S.

On voit au développement de l'échiquier du tableau 3 que, dans le système cytoplasmique génique, un avantage $K = \frac{1}{Q}$ des pollinisateurs *N msms* rétablit à lui seul la fréquence p de *ms* dans la population de pollen. Si Q est grand, un avantage K minime suffit, mais dès que P dépasse la valeur 0,5, K doit être supérieur à 2. Quand A (ou α) et K concourent à l'équilibre, la valeur de chacun se trouve évidemment réduite.

Quant à la compensation de l'excès des descendants cytoplasmiques des mâles-stériles, elle peut résulter d'un avantage en production de graines d'un ou plusieurs des génotypes *N*, ou d'une infériorité des génotypes *S Ms ms* et *S Ms Ms* (ces différents génotypes n'ont pas été distingués dans nos observations comparatives entre stériles et fertiles).

On est donc conduit à la situation probable résumée par le tableau 4, où chaque génotype contribue par des fréquences caractéristiques de gamètes efficaces femelles et mâles, au maintien de la population. Cette situation résulte de relations plus complexes entre allèles du locus *Ms*, ou de loci liés au site *Ms*, et même entre allèles

TABLEAU 4

Panmixie dans une population porteuse de stérilité-mâle

Situation générale : chaque génotype possède un avantage particulier comme géniteur femelle ou mâle

Génotypes	Fréquences	Avantages					
		comme femelle			comme mâle		
		symbole	valeurs		symbole	valeurs	
			ou			ou	
S msms	Pp^2	A	> 1	> 1	G	0	0
S Msms	$P\,2pq$	B	$= 1$	$\leqslant 1$	H	$\geqslant 1$	$\geqslant 1$
S MsMs	Pq^2	C	$\leqslant 1$	$\leqslant$ B	J	$= 1$	< 1
N msms	Qp^2	D	$= 1$	$=$ A	K	> 1	> 1
N Msms	$Q\,2pq$	E	$= 1$	$=$ B	L	$\geqslant 1$	$\geqslant 1$
N MsMs	Qq^2	F	$= 1$	$=$ C	M	$= 1$	< 1

et cytoplasme. Ainsi que l'ont démontré Ross *et al.* (1971, 1975), dès que l'homozygote *MsMs* se trouve en infériorité par rapport à l'hétérozygote et au mâle-stérile, des avantages limités A et B — en tout cas inférieurs à 2 — suffisent à maintenir une fréquence appréciable de stériles dans la population.

L'équilibre des facteurs cytoplasmiques et géniques paraît possible :

— Pour les cytoplasmes N et S, il suffit que :

$$\frac{A\ (Pp^2) + B\ (P \cdot 2pq) + C\ (P \cdot q^2)}{D\ (Qp^2) + E\ (Q \cdot 2pq) + F\ (Q \cdot q^2)} = \frac{P}{Q} \quad \text{ou} \quad \frac{Ap^2 + B\ 2\ pq + C\ q^2}{Dp^2 + E\ 2\ pq + F\ q^2} = 1$$

(Cette relation est indépendante de P et Q)

Lorsque nous confondons dans une même catégorie l'ensemble des génotypes mâles-fertiles, la supériorité observée ou supposée des mâles-stériles par rapport à cet ensemble n'est pas incompatible avec cette condition d'équilibre.

— Pour les allèles *Ms* et *ms*, l'équilibre est fonction des relations entre les avantages sélectifs mâles et femelles des divers génotypes, et des fréquences elles-mêmes de ces génotypes.

B. — *Application aux données expérimentales*

On recherche quelles valeurs minimales conférer à chaque avantage pour maintenir l'équilibre des cytoplasmes N et S et celui des allèles *Ms* et *ms*, dans quelques situations définies par les fréquences P et *p*.

A est toujours supérieur à 1, et expérimentalement, sa valeur paraît voisine de 1,20 ou 1,30. Il paraît simple d'assurer l'équilibre cytoplasmique par un désavantage compensateur C (*S Ms Ms*) ou B (*S Ms ms*) ou B et C. L'équilibre rétabli ne concerne alors que les cytoplasmes, mais la fréquence de *ms* dans la population d'ovules est accrue (hypothèse 1).

Mais un avantage de certains des génotypes comportant N ou de leur ensemble peut assurer le même résultat.

Lorsque les avantages différentiels nécessaires au maintien de l'équilibre sont les plus réduits, nous parlerons d'avantages « balancés ».

L'équilibre dans les populations se situant comme « Auxonne », « Stuttgart » ou « Zittau » (tabl. 1) ne suppose pas l'intervention d'avantages A et K considérables = en l'absence de toute intervention au niveau cytoplasmique, l'accroissement de fréquence de S reste lent (situation 1).

Dans un cas du type « Sélestat », l'intervention d'avantages différentiels modérés influant les deux gamétogenèses est nécessaire (situation 2).

Les cas les plus surprenants (« Rose de Bretagne », « Jaune de Rovigo ») supposent des différences de fertilité importantes et qui devraient être observables (situation 3) (tabl. 5).

Dans la situation 3, il faut souligner que l'avantage A dépend en grande partie des conditions externes régnant au moment de la pollinisation : plus ce climat favorise l'autogamie, plus l'avantage des descendants de plantes mâles-stériles, à la culture suivante, sera grand, dans la mesure toutefois où les plantes-mères conservent une production grainière acceptable et où une pression de sélection s'applique aux descendances. Le génotype mâle-stérile est deux fois plus prolifique que la moyenne

TABLEAU 5

Calculs d'avantages « balancés »

Génotypes	Situation 1 « Auxonne » P = 0,20 p = 0,50			Situation 2 « Sélestat » P = 0,50 p = 0,50			Situation 3 « Rovigo » P = 0,70 p = 0,71			
	fréquences	avantages ♀	avantages ♂	fréquences	avantages ♀	avantages ♂	fréquences	avantages ♀		avantages ♂
S ms ms	0,05	A = 1,20	G = 0	0,125	A = 1,20	G = 0	0,35	A = 1,50 ou		G = 0
S Ms ms	0,10	B = 1,00	H = 1,00	0,250	B = 0,93	H = 1,29	0,29	B = 0,50	B = 1,00	H = 1,47
S Ms Ms	0,05	C = 1,00	J = 1,00	0,125	C = 0,93	J = 0,78	0,06	C = 0,50	C = 0,50	J = 0,88
N ms ms	0,20	D = 1,00	K = 1,20	0,125	D = 1,00	K = 1,29	0,15	D = 1,00	D = 1,50	K = 2,06
N Ms ms	0,40	E = 1,00	L = 1,00	0,250	E = 1,00	L = 1,29	0,12	E = 1 00	E = 1,00	L = 1,47
N Ms Ms	0,20	F = 1,00	M = 1,00	0,125	F = 1,00	M = 0,78	0,03	F = 1,00	F = 0,50	M = 0,88

Observations : L'accroissement de P/Q entraîné par les avantages représentés dans la situation 1 est évité dans le cas où D = 1,20, K = 1,00, les autres coefficients restant inchangés.

Ces valeurs ne sont données qu'à titre d'exemple.

des individus fertiles dans le cas où B = C = 0,50, D = E = F = 1,00, mais seulement 1,43 fois plus prolifique dans le cas où les avantages B, C, D, E, F, sont plus différenciés (deuxième colonne d'avantages femelles). L'avantage du génotype *N ms ms* en tant que pollinisateur est de 2,34 par rapport aux moins bons pollinisateurs ; il est de 1,51 par rapport à la moyenne des autres mâles-fertiles.

L'explication avancée est donc plausible, mais la méthode initiale de calcul des fréquences P et *p* dans la population zygotique, en identifiant *p* à la fréquence de l'allèle *ms* dans la population de pollen, devient totalement erronée : la fréquence réelle du cytoplasme S doit être plus élevée qu'il n'était indiqué au tableau 1, et celle de *ms* suffisamment forte pour expliquer les 35 p. 100 de mâles-stériles observés dans une population de « Rovigo ».

IV. — LA « DÉRIVE » DU CYTOPLASME

Dans toutes les populations que nous avons analysées, les cytoplasmes N et S, et parfois même un troisième type appelé T, sont présents. Cette constance dans la diversité mérite réflexion, car elle n'est guère connue dans les variétés d'autres espèces cultivées. On connaît des cas de diversité cytoplasmique au niveau des espèces ou des écotypes, comme chez *Solanum verrucosum* (Abdalla et Hermsen, 1972) ou chez le Maïs (Beckett, 1971) ou au niveau de petites populations spontanées chez diverses Labiées gynodioïques.

Dans notre cas, le phénomène paraît d'autant plus étonnant qu'un grand nombre de variétés est entretenu par sélection massale avec choix d'un petit nombre de bulbes porte-graine « élite » ; la consanguinité reste cependant réduite car les élites sont volontairement placées au centre d'un champ de multiplication de la variété dont elles reçoivent librement le pollen.

En remontant dans la généalogie des vieilles sélections, tout se ramène souvent à une seule, ou à un très petit nombre de plantes-mères « fondatrices », donc d'unités cytoplasmiques dont les relations d'identité ne sont pas définies.

En raison de l'avantage A du génotype mâle-stérile, le cytoplasme S aurait le plus de chances de rester seul. (Fig. 1).

La conception d'unités cytoplasmiques aussi contrastées et immuables que le suggèrent les symboles typographiques N, S, T est désormais dépassée. On doit admettre que les formes cytoplasmiques peuvent évoluer dans les populations, mais aussi que les formes utilisées dans nos programmes de sélection sont suffisamment stables pour être conservées : cytoplasme stérile « Italian red » de l'Oignon, « Texas » du Maïs, du moins lorsque les formes « douteuses » sont éliminées.

L'explication du mécanisme de la stérilité mâle cytoplasmique par un support mitochondrial déficient sur le plan respiratoire (Bervillé et Demarly, 1970 ; Demarly, 1974 ; Bervillé et Le Guen, 1974), l'existence d'un équipement mitochondrial hétérogène dans certaines cellules, le comportement propre des mitochondries normales et déficientes au cours des divisions cellulaires, cadrent bien avec le maintien des formes S et N, ou de leurs potentialités, dans des populations restreintes.

Cependant, aucun cas indiscutable de résurgence cytoplasmique n'a pu être mis en évidence dans notre travail sur oignons ; ceci montre que le phénomène doit être discret, rare, et qu'il n'expliquerait pas le maintien d'un équilibre des fréquences courantes de S et N dans les populations, mais seulement la persistance de ces formes.

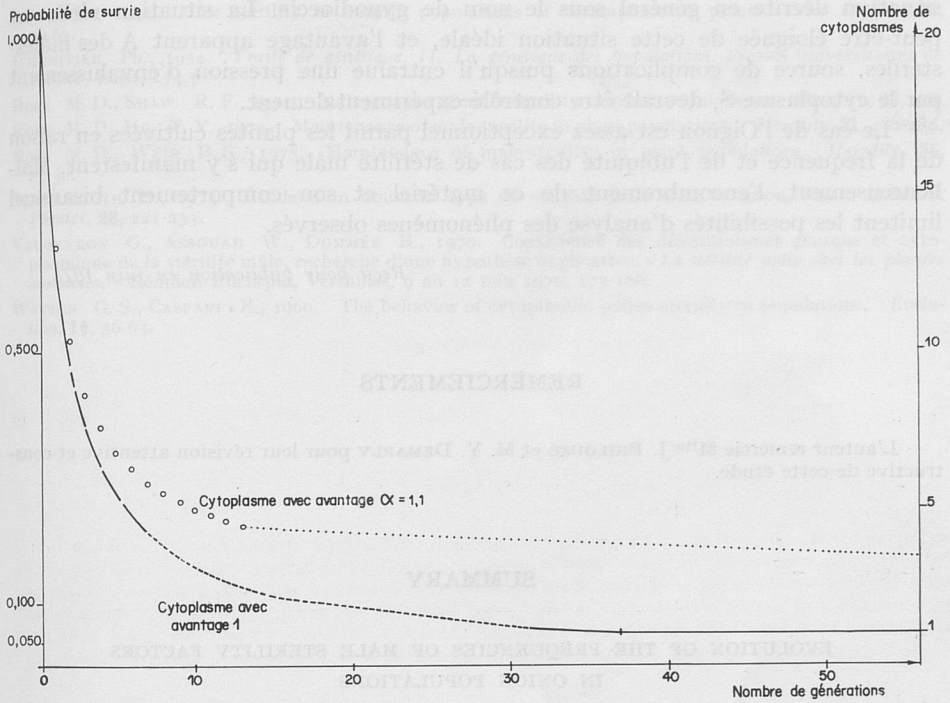


FIG. 1. — *Courbe d'évolution et d'extinction des cytoplasmes, selon une distribution en loi de Poisson des descendants — population d'effectif constant limitée par hypothèse à 20 individus.*

CONCLUSION

Les variations de fréquence des déterminants génétiques *S* et *ms*, se manifestant uniquement par la stérilité-mâle de la forme *S ms ms*, dépendent des fréquences des deux éléments. En l'absence de tout avantage sélectif, *ms* disparaîtrait pratiquement des populations, d'autant plus que *S* serait plus abondant. Lorsque l'allèle *ms* est absent ou rare, la fréquence de *S* devient indifférente. La présence dans les populations de *S* et *ms* à des fréquences P et *p* élevées suppose l'existence d'avantages sélectifs réels et importants. Une fois réalisé le maintien d'une fréquence élevée de *msms*, la fréquence *P* de *S* augmente, ou est contenue par un mécanisme compensateur. Les facteurs en jeu sont, soit des avantages *apparents* liés à un génotype particulier, comme le nombre de graines effectif, ou l'origine obligatoirement allogame de la descendance, dans le cas du mâle-stérile, soit des avantages *supposés*, s'exerçant à l'état homozygote (par exemple K du pollinisateur *N ms ms*) ou hétéro-

zygote (fécondité des types *Ms ms* supposée supérieure à celle des *Ms Ms*). Ces derniers renforcent l'avantage apparent A en favorisant l'allèle *ms*, et équilibrent les fréquences des cytoplasmes.

La synergie d'avantages modérés ajustés à chaque génotype peut expliquer des situations où le mâle-stérile occupe une place importante dans les populations, situation décrite en général sous le nom de gynodioecie. La situation réelle est peut-être éloignée de cette situation idéale, et l'avantage apparent A des mâles-stériles, source de complications puisqu'il entraîne une pression d'envahissement par le cytoplasme S, devrait être contrôlé expérimentalement.

Le cas de l'Oignon est assez exceptionnel parmi les plantes cultivées en raison de la fréquence et de l'ubiquité des cas de stérilité mâle qui s'y manifestent. Malheureusement, l'encombrement de ce matériel et son comportement bisannuel limitent les possibilités d'analyse des phénomènes observés.

Reçu pour publication en juin 1975.

REMERCIEMENTS

L'auteur remercie Mlle J. PHILOUZE et M. Y. DEMARLY pour leur révision attentive et constructive de cette étude.

SUMMARY

EVOLUTION OF THE FREQUENCIES OF MALE STERILITY FACTORS IN ONION POPULATIONS

The frequencies of the S cytoplasmic factor and the *ms* gene controlling the classical male sterility (type Italian-red) in Onion are highly variable in different populations.

The within population variation of the frequencies of the two factors were investigated taking into account the apparent selective values of the male sterile plants relative to the male fertile ones : the occurrence of a non-negligible proportion of autogamy in the latter and their lower capsule fertility suggest that the advantage of the male sterile plants in terms of progeny number amounts to approximately 20 p. 100. Restricted to the only male sterile genotype, such an advantage would not prevent the elimination of the *ms* allele nor the spread of the cytoplasm S, however, a differential and compensatory contribution from other genotypes to the production of male and female gametes can explain the lasting of high frequencies in *N* and *ms* factors in the populations.

Finally the widespread occurrence of a cytoplasmic polymorphism in old restricted onion populations leads us to doubt of the stability of the various cytoplasmic states.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABDALLA M. M. F., HERMSEN J. G. Th., 1972. Plasmon and male sterility types in *Solanum verrucosum* and its interspecific hybrid derivatives. *Euphytica*, **21** (2), 209-220.

BECKETT J. B., 1971. Classification of male sterile cytoplasms in Maize. *Crop Sci.*, **11** (5), 724-726.

BERNINGER E., 1965. Contribution à l'étude de la stérilité mâle de l'Oignon. *Ann. Amélior. Plantes*, **15**, 183-199.

BERNINGER E., BURET Ph., 1967. Étude des déficients chlorophylliens chez l'Oignon et le Poireau. *Ann. Amélior. Plantes*, **17**, 175-194.

BERVILLÉ A., DEMARLY Y., 1970. La stérilité mâle cytoplasmique chez les végétaux. « *La stérilité mâle chez les plantes horticoles.* » Réunion Eucarpia, Versailles, 9 au 12 juin 1970, 147-167.

BERVILLÉ A., LE GUEN J. 1974. La stérilité mâle cytoplasmique. *Sélectionneur français*, **18**, 11-19.

DEMARLY Y., 1974. Les effets cytoplasmiques et l'amélioration des plantes. *Sélectionneur français*, **19**, 61-68.

LEWIS D., 1941. Mâle sterility in natural populations of hermaphroditic plants. *New Phytol.*, **40**, 36-63.

L'HERITIER Ph., 1954. *Traité de génétique. II. La génétique des populations*, Presses universitaires de France, Paris, 174 p.

ROSS M. D., SHAW R. F., 1971. Maintenance of male sterility in plant populations. *Heredity*, **26**, 1-8.

ROSS M. D., HO T. Y., 1973. Maintenance of male sterility in plant populations. *Heredity*, **31**, 282-286.

ROSS M. D., WEIR B. S., 1975. Maintenance of male-sterility in plant populations. *Heredity*, **35**, 21-30.

SCHWEISGUTH B., 1973. Étude d'un nouveau type de stérilité mâle chez l'Oignon. *Ann. Amélior. Plantes*, **23**, 221-233.

VALDEYRON G., ASSOUAD W., DOMMÉE B., 1970. Coexistence des déterminismes génique et cytoplasmique de la stérilité mâle, recherche d'une hypothèse explicative. « *La stérilité mâle chez les plantes horticoles.* » Réunion Eucarpia, Versailles, 9 au 12 juin 1970, 175-186.

WATSON G. S., CASPARI E., 1960. The behavior of cytoplasmic pollen sterility in populations. *Evolution*, **14**, 56-63.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (4), 565-568.

RECHERCHE DE PLANTES HAPLOÏDES DE PÉTUNIA A NOYAU ANDROGÉNÉTIQUE ET A CYTOPLASME GYNOGÉNÉTIQUE DÉTERMINANT LA STÉRILITÉ POLLINIQUE

Indra Sen SINGH et A. CORNU

Laboratoire de Mutagenèse,
Station d'Amélioration des Plantes,
Centre de Recherches de Dijon, I. N. R. A.,
B.V. 1540, 21034 Dijon Cedex

RÉSUMÉ

Seize plantes haploïdes à noyau d'origine androgénétique et à cytoplasme d'origine gynogénétique, déterminant la stérilité pollinique, ont été obtenues par un tri précoce effectué dans une population très nombreuse de plantules de Pétunia sur la base de la présence ou l'absence d'un gène marqueur (P_1-p_1). L'irradiation préalable des ovules n'a pas eu d'effet sur la fréquence des haploïdes isolés. Par contre, il semble que cette fréquence dépende du génotype du pollen utilisé. Les plantes diploïdes issues des haploïdes ne manifestent aucune fertilité pollinique.

INTRODUCTION

Des plantes haploïdes apparaissent parfois dans les populations issues des traitements mutagènes appliqués à des zygotes ou au pollen, chez *Petunia hybrida* HORT. (CORNU et MAIZONNIER, 1970 ; MAIZONNIER, 1973, 1974). Ces haploïdes peuvent posséder le génotype maternel ou paternel. Il est généralement admis que le cytoplasme des haploïdes androgénétiques est d'origine maternelle. En utilisant comme parent ovulaire une lignée à cytoplasme déterminant une stérilité pollinique totale, on peut vérifier cette assertion, bien que l'introduction d'un génotype différent dans un plasmotype puisse aboutir à une expression phénotypique nouvelle. Cette manipulation présente un double avantage :

1) Elle met en présence dans le même zygote un facteur de stérilité cytoplasmique et un génome totalement introduit ;

2) Par doublement du nombre chromosomique des haploïdes, elle fournit directement des lignées homozygotes porteuses du caractère de stérilité pollinique, comme l'avait proposé CHASE (1969) pour le Maïs.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les lignées de *Petunia hybrida* HORT. employées sont les suivantes :

TL-h_1-CPS (*) de génotype P_1/P_1.

S*f*-1 *a*, R*f*-1 *a* et S*r*-2 *a*, lignées normalement fertiles et de génotype p_1/p_1.

Le locus P_1-p_1 (MEYNET, CORNU et PAYNOT, 1971) entraîne la présence ou l'absence d'anthocyanes sur l'épicotyle.

De nombreuses fécondations de TL-h_1-CPS ont été faites par le pollen des trois lignées porteuses de gène p_1. Dans une expérience sur deux, les fleurs de la lignée TL-h_1-CPS ont reçu avant fécondation une dose de 1 kR de rayonnement gamma provenant d'une source de ^{60}Co. Les graines obtenues sont donc réparties en six lots, selon qu'elles proviennent d'ovules irradiés ou non et selon le génotype pollinique.

Le tri des plantules haploïdes se fait de la manière suivante : les plantules sont placées pendant cinq jours en armoire climatisée à une température continue de 15°C avec 16 heures d'éclairement par jour. L'éclairement des plantules atteint 16 000 lux. Dans ces conditions la pigmentation anthocyanique des plantules dont le génotype comporte P_1 est intense et la détection des plantules non pigmentées devient aisée. Seules ces dernières sont gardées et élevées jusqu'à la floraison : à ce stade il est facile de distinguer les plantes haploïdes, ne portant que les gènes marqueurs des lignées paternelles, des plantes hybrides, chez lesquelles l'absence d'anthocyane peut être due à une mutation du gène P_1. Une analyse caryologique des plantes à caractère paternel permet de vérifier leur état haploïde ($n = 7$).

Les plantes diploïdes sont régénérées à partir des haploïdes confirmées, après culture de pédoncule *in vitro* (PELLETIER et DELISE, 1969) ; les bourgeons néoformés donnent souvent naissance à des plantes diploïdes. La fertilité pollinique de ces plantes est étudiée par la technique d'ALEXANDER (1969).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Des plantes haploïdes androgénétiques ont été repérées et isolées dans les croisements TL-h_1-CPS × S*f*-1 *a* et TL-h_1CPS × S*r*-2 *a* (tabl. 1). Les haploïdes obtenus présentent toutes les caractéristiques de la lignée S*f*-1 *a* ou de la lignée S*r*-2 *a* : port de la plante, coloration et forme de la fleur, etc. Par contre, si les haploïdes sont tout à fait viables, ils ont une apparence plus fragile que les lignées paternelles, des feuilles et des fleurs plus petites. De plus, les haploïdes ne forment pas de pollen ; ce type de stérilité est tout à fait semblable à celui de la lignée TL-h_1-CPS, qui est caractérisé par la dégénérescence des microspores dans les tétrades (SINGH, note en préparation) ; par contre, il est différent de celui qu'on observe chez les haploïdes à cytoplasme normal, chez lesquels il y a émission de grains de pollen le plus souvent non viables (MAIZONNIER, 1974).

La lecture du tableau 1 appelle les remarques suivantes :

1° La fréquence d'apparition des haploïdes est relativement faible : elle est de l'ordre de 1 à 2×10^{-4} plantes. Elle n'est pas modifiée par l'irradiation des ovules maternels.

2° Cette irradiation, par contre, a un effet très net sur le taux de mutation du gène P_1 : 55 mutants (environ 8×10^{-4}) après irradiation, aucun dans les témoins.

(*) CPS : abréviation signifiant « cytoplasme déterminant la stérilité pollinique ».

TABLEAU I

Analyse des plantes obtenues dans les différents croisements, avec (*) et sans irradiation des ovules maternels

Croisement	Nombre total de plantules observées	Nombre de plantules non anthocyanées (toutes CPS)		
		Haploïdes (p_1) et CPS	Hybrides (p_1) et CPS	Total (p_1)
TL-h_1-CPS ♀ (*) × S*f*-1 *a*	27 981	5 (1,80 × 10^{-4})	35 (1,25 × 10^{-3})	40 (1,43 × 10^{-3})
TL-h_1-CPS ♀ × S*f*-1 *a*	24 982	4 (1,60 × 10^{-4})	0	4 (1,60 × 10^{-4})
TL-h_1-CPS ♀ (*) × R*f*-1 *a*	17 831	0	10 (5,60 × 10^{-4})	10 (5,60 × 10^{-4})
TL-h_1-CPS ♀ × R*f*-1 *a*	21 600	0	0	0
TL-h_1-CPS ♀ (*) × S*r*-2 *a*	22 571	3 (1,33 × 10^{-4})	10 (4,43 × 10^{-4})	13 (5,80 × 10^{-4})
TL-h_1-CPS ♀ × S*r*-2 *a*	39 781	4 (1,00 × 10^{-4})	0	4 (1,00 × 10^{-4})

CPS : Cytoplasme déterminant la stérilité pollinique.
(*) : Ovules traités aux rayons gamma (dose 1 kR).

Les résultats antérieurs analogues permettent de penser que les mutants sont dus à des pertes du gène P_1 par délétion (Dommergues et Cornu, 1972).

3° Le croisement TL-h_1-CPS × R*f*-1 *a* n'a fourni aucun haploïde repérable dans les conditions de l'expérience. On est donc amené à penser que la probabilité d'obtenir des haploïdes androgénétiques n'est pas la même si l'on utilise différents génotypes paternels.

Les cultures *in vitro* de pédoncules floraux, faites à partir de certains haploïdes obtenus, ont donné naissance à des plantes dont 93 p. 100 sont diploïdes. Les plantes diploïdes ainsi obtenues sont stériles par absence de pollen de la même manière que les plantes haploïdes originelles, tandis que la fertilité ovulaire est normale. Les plantes diploïdes issues de tous les haploïdes à cytoplasme normal par doublement du nombre de chromosomes forment toutes du pollen.

CONCLUSIONS

Ces expériences montrent qu'il est possible d'obtenir en une génération chez le Pétunia des haploïdes androgénétiques porteurs d'un facteur cytoplasmique de stérilité pollinique, et d'en tirer des lignées dihaploïdes à pollen stérile utilisables en sélection.

Pour obtenir ces haploïdes dans les meilleurs conditions, il paraît indispensable de disposer d'un matériel abondant et génétiquement marqué autorisant un tri précoce sur plantules. L'irradiation des ovules maternels ne paraît pas augmenter les chances de réussite.

Enfin, il ressort de ces résultats que les haploïdes androgénétiques apparus possèdent exclusivement les caractéristiques génétiques nucléaires du parent paternel et la caractéristique génétique cytoplasmique du parent maternel. L'interaction nucléo-cytoplasmique n'a donc pas été modifiée dans le cas présent de façon perceptible par l'introgression, en ce qui concerne ces caractéristiques.

Reçu pour publication en janvier 1976.

SUMMARY

RESEARCH OF ANDROGENETIC PETUNIA HAPLOIDS WITH GYNOGENETIC CYTOPLASMIC POLLEN STERILITY

Sixteen androgenetic haploids with gynogenetic cytoplasm, which determines pollen sterility, were obtained by the rapid screening executed on a very large population of Petunia seedlings on the basis of the presence or absence of the marker gene (P_1-p_1). The irradiation of ovules showed no effect on the occurrence of the haploids. However, the frequency of their occurrence depends on the pollen genotype used in the present study. Dihaploids developed from these haploids showed no restoration of pollen fertility.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ALEXANDER M. P., 1969. Differential staining of aborted and non-aborted pollen. *Stain Technol.*, **44** (3), 117-122.

CHASE S. S., 1969. Monoploids and monoploids-derivatives of Maize (*Zea mays* L.). *Bot. Rev.*, **35** (2), 117-167.

CORNU A., MAIZONNIER D., 1970. Origine et comportement méiotique d'un Pétunia haploïde. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, sér. D, **270**, 310-313.

DOMMERGUES P., CORNU A., 1974. Efficacité des traitements mutagènes sur gamètes et sur zygotes. *Polyploidy and induced mutations in Plant Breeding*, IAEA-PL-503/29, Vienne, 115-126.

MAIZONNIER D., 1973. Further results on haploid and dihaploid plants of Petunia. *Haploid Information Service*, **8**, 4-7.

MAIZONNIER D., 1974. Comportement méiotique et descendances des plantes haploïdes de Pétunia. *Polyploidy and induced mutations in Plant Breeding*, IAEA-PL-503/29, Vienne, 205-219.

MEYNET J., CORNU A., PAYNOT M., 1971. Analyse du fonctionnement des gènes majeurs impliqués dans la pigmentation florale du Pétunia. *Ann. Amélior. Plantes*, **21** (2), 103-116.

PELLETIER G., DELISE B., 1969. Sur la faculté de régénération de plantes entières par culture *in vitro* du pédoncule floral de *Petunia pendula*. *Ann. Amélior. Plantes*, **19** (3), 353-355.

SINGH I. S., 1976. Études cyto-histologiques de types différents de stérilité pollinique chez le Pétunia. (*En préparation*).

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (4), 569-577.

COMPOSANTES DE VARIABILITÉ ET INTERACTIONS FONCTIONNELLES AUX LOCI a_1^+-a_1 ET a_2^+-a_2 DE *NICOTIANA TABACUM* L. (1)

H. DULIEU (2) et M. A. DALEBROUX (3)

Station d'Amélioration des Plantes,
Centre de Recherches de Dijon, I. N. R. A.,
B.V. 1540, 21034 Dijon Cedex

RÉSUMÉ

Une population F_2 du double hétérozygote pour deux loci, a_1^+-a_1 et a_2^+-a_2 (*A*-*a* et *B*-*b* dans le texte), impliqués dans la différenciation des chloroplastes, a été étudiée. Les estimateurs des paramètres de variabilité génétique ont été obtenus à partir des mesures des quantités de chlorophylle *a*.

Cette publication présente le modèle mathématique sur lequel est basée l'analyse aux moindres carrés. On peut résumer comme suit les conclusions :

1. la mutation *b* est amorphe et consiste probablement en une petite délétion concernant le gène *B* ;
2. la mutation *a*, probablement ponctuelle de *A*, est fonctionnelle et antagoniste de *A* et *B*;
3. il y a coopération fonctionnelle entre *A* et *B*.

On propose l'hypothèse selon laquelle le système est soumis à une compensation de l'effet de dose génique (*gene dosage compensation*) de telle manière que la présence en quantité constante, quel que soit le génotype du système, d'un facteur limitant utilisé par les gènes fonctionnels modifie le niveau d'action global en fonction des doses relatives de gènes sauvages et antagonistes.

I. — INTRODUCTION

La détermination des effets géniques dans des génotypes nouveaux obtenus par mutations induites devrait permettre de proposer des hypothèses plus précises sur la nature ponctuelle ou non de ces mutations.

(1) Publication n° 1064 de la Division de Biologie de la C.C.E., contrat n° 097-72-1 BIO F.
(2) Maître de Recherche au C.N.R.S.
(3) Fonctionnaire scientifique à la C.C.E.

Le traitement avec des agents alkylants, comme le méthyl-sulfonate d'éthyle, provoque de nombreuses mutations somatiques concernant notamment le système chloroplastique. Beaucoup de ces mutations sont localisées dans le plastidome ou dans le cytoplasmone. D'autres sont transmises selon les lois de l'hérédité mendélienne.

Le travail décrit a consisté en l'analyse du critère « Quantité de chlorophylle *a* » dans une F_2 de $a_1^+/a_1\ a_2^+/a_2$.

Le but poursuivi est d'arriver à établir des hypothèses sur le fonctionnement des facteurs en jeu (a_1^+-a_1, a_2^+-a_2) et la nature des mutations à chaque locus, compte tenu de ce que les produits de l'activité de ces facteurs ne sont pas connus.

II. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

Deux loci indépendants à deux allèles, a_1^+-a_1 et a_2^+-a_2 (DULIEU *et al.*, 1971 ; DULIEU, 1974 et 1975), impliqués dans la différenciation des chloroplastes, ont été isolés. Pour la facilité de l'écriture, ces allèles seront appelés respectivement *A*, *a*, *B* et *b*. Les neufs génotypes correspondant aux combinaisons possibles à ces deux loci sont parfaitement identifiables, soit par observation directe, soit par des tests génétiques appropriés.

Les observations ont porté sur les quantités de chlorophylle *a* par unité de poids frais de feuille (µg/g). On a fait trois expériences : deux *in vitro* et une en chambre climatisée. La première, S_1, a porté sur des plantules de semis. La deuxième, S_2, a porté sur des plantules issues de boutures qui constituaient la troisième multiplication végétative à partir d'individus semés *in vitro*. Le milieu de culture contenait une solution minérale, des vitamines, de la glutamine et du sucre. Les cultures ont été faites à 20°C sous 16 heures d'éclairement journalier. La troisième expérience, S_3, a porté sur les mêmes clones que ceux de la S_2, mais transplantés en chambre climatisée à 20°C et 16 heures de lumière. Dans la S_1, l'extraction a été faite sans broyage dans l'acétone à 80 p. 100 à — 20°C. Dans les S_2 et S_3, l'extraction a été faite par broyage dans l'éther éthylique à température ambiante. Dans les S_1 et S_2, on a fait l'extraction sur approximativement 500 mg de feuilles, représentant la quasi totalité de la plantule. Dans la S_3, l'extraction a porté sur 1,5 à 3,0 g de matériel représentant le sommet végétatif.

La quantité de chlorophylle *a* est calculée à partir de la densité optique à 662 et 644, et 663 et 645 nm respectivement pour l'éther et l'acétone (SMITH et BENITEZ, 1955).

Pour chacune des trois expériences, on a construit la F_2 d'un double hétérozygote *AaBb*. Le modèle linéaire additif, à effets fixés, pour un individu Y_{ijklm} est le suivant :

$$Y_{ijklm} = \mu$$ moyenne de la population

$$+ \alpha_i + \alpha_j + \delta_{ij}$$ effets additifs et de dominance au locus *I*

$$+ \beta_k + \beta_l + \zeta_{kl}$$ effets additifs et de dominance au locus *II*

$$+ (\alpha\beta)_{ik} + (\alpha\beta)_{il} + (\alpha\beta)_{jk} + (\alpha\beta)_{jl}$$ effets d'interaction entre les effets additifs au locus *I* d'une part et au locus *II* d'autre part

$$+ (\alpha\zeta)_{ikl} + (\alpha\zeta)_{jkl}$$ effets d'interaction entre les effets additifs au locus *I* et l'effet de dominance au locus *II*

$$+ (\delta\beta)_{ijk} + (\delta\beta)_{ijl}$$ effets d'interaction entre l'effet de dominance au locus *I* et les effets additifs au locus *II*

$$+ (\delta\zeta)_{ijkl}$$ effets d'interaction entre les effets de dominance au locus *I* d'une part et au locus *II* d'autre part

$$+ \varepsilon_{ijklm}$$ effet-erreur aléatoire *m* dans la mesure du génotype *ijkl*

où

$i, j, k, l = 1, 2$

$m = 1, 2, \ldots, f_{ijkl}N$; f_{ijkl} et N sont respectivement la fréquence du génotype *ijkl* dans la F_2 et l'effectif total de celle-ci.

Bien entendu, les ε_{ijklm} sont considérés comme stochastiquement indépendants et distribués normalement avec moyenne zéro et variance σ^2.

Sur la base de ce modèle, l'analyse de variance se présente comme suit (tabl. 1) :

TABLEAU 1

Source de variation	dl	Carré moyen	E (CM)
Moyenne	1	—	
Additivité *I*	1	CMA_I	$\sigma^2 + NA_I$
Dominance *I*	1	CMD_I	$\sigma^2 + ND_I$
Additivité *II*	1	CMA_{II}	$\sigma^2 + NA_{II}$
Dominance *II*	1	CMD_{II}	$\sigma^2 + ND_{II}$
Add. *I* × Add. *II*	1	$CMAA_{I,II}$	$\sigma^2 + NAA_{I,II}$
Add. *I* × Dom. *II*	1	$CMAD_{I,II}$	$\sigma^2 + NAD_{I,II}$
Dom. *I* × Add. *II*	1	$CMDA_{I,II}$	$\sigma^2 + NDA_{I,II}$
Dom. *I* × Dom. *II*	1	$CMDD_{I,II}$	$\sigma^2 + NDD_{I,II}$
Erreur	N-9	CME	σ^2

Les estimateurs des composantes de variabilité s'obtiennent de la façon suivante :

$$\hat{A}_I = \frac{CMA_I - CME}{N}, \ldots, \widehat{DD}_{I,II} = \frac{CMDD_{I,II} - CME}{N}$$

$$\hat{\sigma}^2 = s_e^2 = CME$$

d'où l'on tire les éléments du tableau 2.

TABLEAU 2

Estimateur de la composante de variabilité génétique imputable à	
Additivité	$\hat{A} = \hat{A}_I + \hat{A}_{II}$
Dominance	$\hat{D} = \hat{D}_I + \hat{D}_{II}$
Additivité × Additivité	$\widehat{AA} = \widehat{AA}_{I,II}$
Additivité × Dominance	$\widehat{AD} = \widehat{AD}_{I,II} + \widehat{DA}_{I,II}$
Dominance × Dominance	$\widehat{DD} = \widehat{DD}_{I,II}$

La composante de variabilité génétique totale est :

$$\hat{G} = \hat{A} + \hat{D} + \widehat{AA} + \widehat{AD} + \widehat{DD}$$

La variabilité phénotypique est :

$$\hat{P} = \hat{G} + s_e^2$$

Finalement, on estime l'héritabilité aux sens étroit et large pour le caractère concerné par les deux loci :

$$\hat{h}^2_E = \frac{\hat{A}}{\hat{P}}$$

$$\hat{h}^2_L = \frac{\hat{G}}{\hat{P}}$$

III. — RÉSULTATS ET DISCUSSION

III. 1. — *Paramètres de variabilité*

Le tableau 3 présente les données moyennes pour les trois expériences.

Le tableau 4 donne les valeurs des estimateurs des composantes des variabilités génétique et phénotypique, ainsi que les héritabilités.

TABLEAU 3

Quantités moyennes de Chlorophylle a (µg) *par gramme de poids frais de matériel*

Locus *I*	Locus *II*			
	Expérience	*BB*	*Bb*	*bb*
AA	S_1	714,2	791,8	733,6
	S_2	534,7	838,5	469,2
	S_3	820,5	908,1	889,0
Aa	S_1	764,5	317,0	118,4
	S_2	435,2	316,1	175,7
	S_3	772,1	163,9	62,1
aa	S_1	132,0	48,2	0,0
	S_2	166,7	130,7	0,0
	S_3	56,0	14,4	0,0

D'une façon générale, la composante d'additivité est de loin la plus importante. En effet, elle constitue, respectivement pour les expériences 1, 2 et 3, 82, 75 et 76 p. 100 de la variabilité phénotypique. La somme des autres composantes de variabilité génétique représente respectivement 15, 15 et 22 p. 100 de la variabilité phénotypique. Ceci signifie que le système étudié peut être soumis efficacement à une sélection massale pour le caractère considéré.

III. 2. — *Interactions fonctionnelles aux loci* A-a *et* B-b

a) Dans les trois expériences, on montre que, en l'absence de *a*, deux gènes sauvages suffisent à l'expression d'un phénotype vert. Quelle que soit l'expérience, les génotypes *AABB* et *AAbb* ne sont pas statistiquement différents. Dans S_3, l'effet de dominance au locus *B-b* en présence de *AA* est statistiquement nul. Cet effet est hautement significatif dans S_1 et S_2. Toutefois, cette superdominance ne contredit pas la proposition formulée.

b) Si *a* est présent, il faut au moins trois gènes sauvages pour que le système exprime un phénotype ne différant pas statistiquement du sauvage. Pour le démontrer, on compare *AaBB* à $(AABB + AAbb)/2$. On ne prend pas *AABb* en considération à cause de la superdominance, observée en S_1 et S_2, qui pourrait fausser le test. En fait, la proposition ne tient que pour S_1 et S_2, c'est-à-dire les deux expériences faites

in vitro. Pour S_3, il subsiste encore un effet dépressif de *a* en présence de trois gènes sauvages. Le génotype *AaBB* est significativement différent de tous les génotypes possédant *a* et moins de trois gènes sauvages.

TABLEAU 4

Composantes des variabilités génétique et phénotypique

	Expérience		
	S_1	S_2	S_3
$\hat{A}$	76 728	43 874	107 885
$\hat{D}$	746	3 897	9 773
$\widehat{AA}$	323	0	194
$\widehat{AD}$	11 029	3 072	15 984
$\widehat{DD}$	1 361	1 964	4 614
$\hat{G}$	90 187	52 807	138 450
s_z^2	2 828	5 825	3 065
$\hat{P}$	93 015	58 632	141 515
$\hat{h}_E^2$	0,82	0,75	0,76
$\hat{h}_L^2$	0,97	0,90	0,98

c) Le facteur *b* est amorphe. En effet, d'une part, *b* n'a pas d'effet antagoniste : *AABB-AAbb* statistiquement nul. D'autre part, le phénotype albinos de *aabb* montre que *b* n'a pas de fonction de type sauvage. L'absence de toute fonction de *b* fait penser que cette mutation consiste probablement en une petite délétion concernant tout ou partie du gène *B*.

d) Il semble que le facteur *a* est antagoniste de *A* et *B*. Cette proposition est appuyée par quatre arguments :

(*i*) L'effet de dominance au locus *A-a* s'inverse de manière significative lorsque le nombre de facteurs *B* passe de deux à un et, finalement, à zéro (tabl. 5).

TABLEAU 5

Effets de dominance au locus A-a *en présence de* BB, Bb *et* bb
(DALEBROUX et DULIEU, 1974)

Effet de dominance	Expérience		
	S_1	S_2	S_3
d_{BB}	341,4	84,5	333,9
d_{Bb}	— 103,0	— 168,5	— 297,4
d_{bb}	— 248,4	— 58,9	— 382,1

Il y a lieu de remarquer que, dans l'expérience 2, la diminution de l'effet de dominance ne se poursuit pas de *Bb* à *bb*. Ceci est dû à la forte superdominance du locus *B-b* en présence de *AA*.

(*ii*) La comparaison des génotypes *aaBB* et *Aabb* montre que ceux-ci ne sont pas statistiquement différents (tabl. 6).

TABLEAU 6

Comparaison des génotypes aaBB et Aabb

	Génotype		Signification
	aaBB	*Aabb*	
S_1	132,0	118,4	NS (Non significatif)
S_2	166,7	175,7	NS
S_3	56,0	62,1	NS

Compte tenu de ce que *b* est amorphe, ceci montre :

1. l'action antagoniste de *a* sur *A* et *B* ;

2. la proportionnalité de cette action antagoniste. En effet, dans le génotype *aaBB*, sont en présence deux doses de *a* et deux doses de *B*, alors que, dans *Aabb*, on trouve un seul *a* et un seul *A*.

(*iii*) Les deux génotypes *AAbb* et *aaBB* sont statistiquement différents. En admettant toujours que *b* est amorphe ceci montre que *a* est antagoniste de *B*.

(*iv*) Les valeurs relatives des trois génotypes *AAbb*, *AaBb* et *aaBB*, qui possèdent chacun deux gènes sauvages respectivement en présence de zéro, un et deux gènes *a* confirment l'action antagoniste de *a* envers *A* et *B*. Le tableau 7 présente

TABLEAU 7

Réponses linéaire et quadratique de AAbb, AaBb *et* aaBB *à la dose de* a

Réponse	Expérience		
	S_1	S_2	S_3
linéaire	904 806**	183 012**	1 387 778**
quadratique	89 398**	19 NS	507 997**

** Significatif à P.01.

les carrés moyens relatifs aux réponses linéaire et quadratique dans chacune des trois expériences. Dans les trois expériences, la composante de linéarité est hautement significative. Ceci traduit l'effet de dose du gène antagoniste *a*. Toutefois, dans S_1 et S_3, la forme réelle de la réponse est de type quadratique concave vers le haut. Cette observation ramène à l'hypothèse, formulée précédemment, selon laquelle deux gènes sauvages ne sont plus suffisants en présence d'un antagoniste *a*. De plus, la forme quadratique concave de la réponse suggère l'existence d'un seuil critique d'expression d'un phénotype muté.

Dans S_2, la réponse est strictement linéaire et, partant, ne dévoile aucun effet de seuil. Il semble donc que, dans les conditions de bouturage *in vitro*, les gènes sauvages s'expriment relativement mieux. Puisque la mutation *a* est fonctionnelle, on pense quelle consiste en un changement ponctuel dans le gène *A*.

Compte tenu de ce qui précède, on peut résumer comme suit les interactions fonctionnelles aux deux loci :

1. *b* est amorphe et consiste donc probablement en une petite délétion concernant tout ou partie du gène *B* ;

2. *a* est antagoniste de *A* et de *B*. Ayant gardé une fonction, *a* est probablement une mutation ponctuelle de *A* ;

3. Il y a coopération fonctionnelle des gènes *A* et *B* ;

Ces observations confirment les hypothèses proposées précédemment par DULIEU (1974, 1975) sur le système.

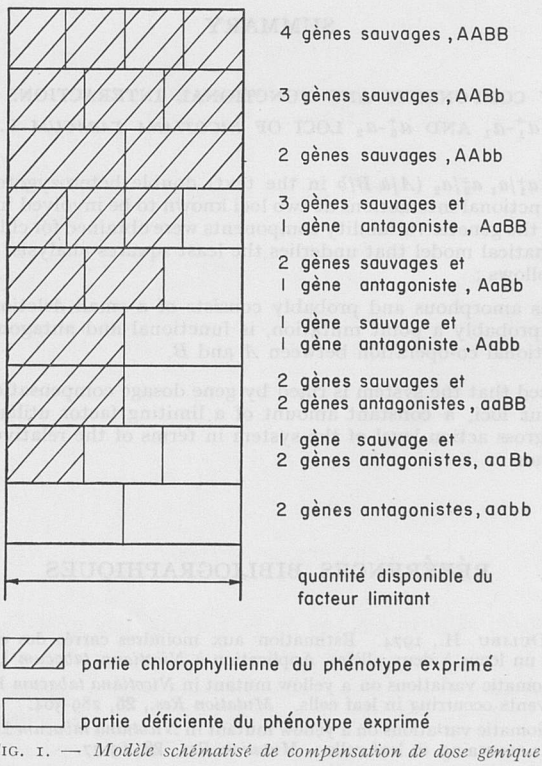


FIG. 1. — *Modèle schématisé de compensation de dose génique*

Pour tenter d'expliquer ces interrelations, on peut proposer un modèle de compensation de dose génique (*gene dosage compensation*, MULLER, 1932 ; MULLER et KAPLAN, 1966). Si, donc, on admet la présence d'une quantité constante d'un facteur limitant (SCHWARTZ, 1971, 1975), le schéma rend compte de l'activité relative des gènes fonctionnels, c'est-à-dire, *A*, *B* et *a* utilisant ce facteur limitant, et de l'activité globale d'un génotype déterminé. La figure 1 présente le modèle schématisé.

La signification statistique de la différence entre deux génotypes donnés dépend d'une part de la grandeur relative des zones déficitaires en pigment (voir fig. 1) et, d'autre part, de l'erreur expérimentale. Bien entendu, l'étalement de la zone déficitaire schématique est soumis à l'influence du milieu. Ainsi, si l'on compare S_2 à S_3, les zones claires du schéma sont plus grandes dans S_3. Ceci signifie que les conditions de milieu de S_3 avantagent le fonctionnement des gènes antagonistes, contrairement à ce qui se passe pour S_2.

Il est possible qu'une mutation du type *a* entraîne la transcription d'une protéine *missense* dont la production ou le fonctionnement entre en compétition avec la production ou le fonctionnement des protéines normales codées par *A* et *B*. Un système de ce type a été analysé par SCHWARTZ (1971, 1975) au locus *Adh-Adh*$_0$ du Maïs, et par TOBLER *et al.* (1971) au locus v^+-v^{36f} de la Drosophile.

Reçu pour publication en novembre 1975.

SUMMARY

VARIABILITY COMPONENTS AND FUNCTIONAL INTERACTIONS AT THE a_1^+-a_1 AND a_2^+-a_2 LOCI OF *NICOTIANA TABACUM* L.

A F_2 from the $a_1^+/a_1\ a_2^+/a_2$ (*A*/*a B*/*b* in the text) double heterozygote was constructed in order to study the functional interactions at two loci known to be involved in chloroplast differentiation. Estimates of the genetic variability components were obtained for chlorophyll *a*. The paper presents the mathematical model that underlies the least squares analysis. The conclusions may be summarized as follows :

1. mutation *b* is amorphous and probably consists of a small deletion involving gene *B* ;
2. mutation *a*, probably a point mutation, is functional and antagonizes both *A* and *B* ;
3. there is functional co-operation between *A* and *B*.

It is hypothesized that the system is ruled by gene dosage compensation, so that, whatever the state of the four loci, a constant amount of a limiting factor utilized by the functional genes modifies the gross action level of the system in terms of the relative proportions of wild and antagonistic genes.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

DALEBROUX M. A., DULIEU H., 1974. Estimation aux moindres carrés des effets géniques chez un organisme diploïde, un locus à deux allèles. Application à *Nicotiana tabacum* L. *Genetica*, **45**, 61-70.

DULIEU H., 1974. Somatic variations on a yellow mutant in *Nicotiana tabacum* L. ($a_1^+/a_1\ a_2^+/a_2$). I. Non-reciprocal genetic events occurring in leaf cells. *Mutation Res.*, **25**, 289-304.

DULIEU H., 1975. Somatic variations on a yellow mutant in *Nicotiana tabacum* L. ($a_1^+/a_1\ a_2^+/a_2$). II. Reciprocal genetic events occurring in leaf cells. *Mutation Res.*, **28**, 69-77.

DULIEU H., BOELPAEPE (de) R., DESHAYES A., 1971. Sur l'existence spontanée de recombinaisons somatiques chez un mutant de *Nicotiana xanthi n. c.* et leur induction par le rayonnement gamma ; premières études génétiques. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, **272**, 3287-3290.

MULLER H. J., 1932. Further studies on the nature and causes of gene mutations. *Proc. 6th Intern. Congr. Genet.*, Ithaca, **1**, 213-255.

MULLER H. J., KAPLAN W. D., 1966. The dosage compensation of Drosophila and mammals as showing the accuracy of the normal type. *Genet. Res.*, **8**, 41.

SCHWARTZ D., 1971. Genetic control of alcohol dehydrogenase competition model for regulation of gene action. *Genetics*, **67**, 411-425.

SCHWARTZ D., 1975. The molecular basis for allelic complementation of alcohol dehydrogenase mutants of maize. *Genetics*, **79**, 207-212.

SMITH J. H. C., BENITEZ A., 1955. Chlorophylls : analysis in plant materials. in *Modern Methods of Plant Analysis*. Ed. K. Paech M. V. Tracey, Springer Verlag, **4**, 142-196.

TOBLER J., BOWMAN J. T., SIMMONS J. R., 1971. Gene modulation in Drosophila : dosage compensation and relocated v^+ genes. *Biochem. Gen.*, **5**, 111-117.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (4), 579-590.

EFFETS GÉNIQUES ET VARIABILITÉ GÉNÉTIQUE POUR PLUSIEURS CARACTÈRES CHEZ UN MUTANT MONOHYBRIDE DE *NICOTIANA TABACUM* L.

Indra Sen SINGH et H. DULIEU

Laboratoire de Mutagenèse,
Station d'Amélioration des Plantes,
Centre de Recherches de Dijon, I. N. R. A.,
B.V. 1540, 21034 Dijon Cedex

RÉSUMÉ

Pour essayer de déterminer la nature de la mutation a_2 chez *Nicotiana tabacum* L., on a estimé les effets géniques et les composantes de variabilité génétique pour un certain nombre de caractères, à savoir :

— longueur et largeur des feuilles,
— allométrie de taille (largeur/longueur) des feuilles,
— hauteur de la plante,
— quantité de chlorophylle,
— quantité de chlorophylle en présence de a_1/a_1,
— fertilités pollinique et ovulaire.

On peut provisoirement conclure que a_2 est une délétion suffisamment petite pour ne pas entraîner de sélection gamétique statistiquement décelable, mais qu'elle modifie le fonctionnement d'autres gènes, généralement responsables de caractères quantitatifs. Cette pléiotropie peut être due soit à la perte de quelques gènes adjacents, soit à leur inactivation, par exemple par une hétérochromatinisation.

INTRODUCTION

Chez le Tabac, deux loci, a_1^+-a_1 et a_2^+-a_2, ont été étudiés pour leur action et leur coopération dans la différenciation des chloroplastes (DULIEU *et al.*, 1971 ; DULIEU, 1974, 1975). Cependant, a_2^+-a_2 a plusieurs effets autres que l'interaction fonctionnelle avec a_1^+-a_1, notamment sur la taille des feuilles, la hauteur de la plante, la morphologie du pollen et la fertilité pollinique.

Cette note présente l'analyse quantitative d'après un modèle applicable lorsque les génotypes sont parfaitement identifiables (Dalebroux et Dulieu, 1974). Elle porte sur dix caractères dans une F_2 résultant de l'autofécondation de a_2^+/a_2.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

La population F_2 se compose des génotypes a_2^+/a_2^+, a_2^+/a_2 et a_2/a_2 dans la proportion 1 : 2 : 1 ($p = q = 1/2$). Les trois génotypes sont identifiables avec certitude par croisement avec la lignée a_1/a_1 a_2^+/a_2^+. Un échantillon d'effectif N et génotypiquement proportionnel à la F_2 a été élevé en chambre climatisée à 20°C, en éclairement de 16 h/jour, et à 70-80 p. 100 d'humidité relative. Les caractères suivants ont été observés :

1. longueur des feuilles (1),
2. largeur des feuilles (1),
3. allométrie de taille (largeur/longueur) des dix premières feuilles,
4. hauteur des plantes,
5. taux de chlorophylle *a* et *b* (µg/g de poids frais),
6. même caractère qu'au point 5, mais observé en présence de a_1/a_1,
7. fertilité pollinique,
8. poids des capsules sèches, P_1 (2),
9. poids des graines/capsule, P_2 (2),
10. rapport P_2/P_1, estimateur de la fertilité ovulaire.

Pour les analyses des régressions (droites allométriques), les données portant sur la longueur et la largeur des feuilles ont été transformées en logarithmes décimaux.

La coloration des grains de pollen a été faite par la solution d'Alexander (1969). Environ 600 grains par fleur ont été observés. Les données p. 100 sur la fertilité pollinique moyenne par plante ont été transformées en valeurs angulaires.

L'extraction des chlorophylles *a* et *b* a été faite dans l'éther éthylique à partir de sommets végétatifs comprenant la dernière feuille adulte formée. La densité optique moyenne de chaque extrait a été calculée sur cinq mesures au spectrophotomètre Beckmann ; on en a déduit les poids de chlorophylle.

L'analyse statistique a été faite sur la base du modèle suivant définissant la valeur phénotypique d'un individu Y_{ijk} :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \alpha_j + \delta_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

où

μ est la moyenne générale
α_i et α_j sont les effets additifs respectifs des allèles i et j ; $i = 1,2$; $j = 1,2$
δ_{ij} est l'effet de dominance de l'allèle i avec son homologue j
ε_{ijk} est l'effet-erreur aléatoire k dans la mesure du génotype ij ;

$$\begin{array}{ll} k = 1,2,\ldots, p^2N & \text{si } i = j = 2 \\ k = 1,2,\ldots, pqN & \text{si } i \neq j \\ k = 1,2,\ldots, q^2N & \text{si } i = j = 1 \end{array}$$

Les effets μ, α et δ sont fixés alors que l'on considère les ε_{ijk} NID (0, σ^2) (3).

Pour la fertilité pollinique, l'action de a_2 a été aussi comparée avec celle d'une autre mutation, *yg* (yellow-green) (4), allélique de a_2^+. L'analyse des caractères biométriques dans la F_2 de yg/a_2 n'a pas encore été possible car *yg* se trouve dans un fond génétique de « 402 flue-cured », différent de celui de Xanthi dont provient a_2.

(1) Numérotées de 1 à *n* à partir de la cinquième.
(2) Toutes les capsules étudiées ont été pollinisées avec du pollen a_2^+.
(3) NID (O, σ^2) = Normalement et Indépendamment Distribués avec moyenne zéro et variance σ^2.
(4) Le gène *yg* a été fourni par le Professeur D. U. Gerstel, North Carolina State University, Raleigh, N. C. 27607, U.S.A.

RÉSULTATS

1. — *Droites allométriques de développement des feuilles*

L'observation permet de séparer trois groupes de feuilles dans chacun des génotypes : par exemple les feuilles 1 à 10, 11 à 21 et 22 à 34 pour a_2^+/a_2^+. Les régressions linéaires représentant les deux relations allométriques A et B (fig. 1 à 3) du développement des feuilles sont hautement significatives pour chaque génotype. Le groupe 1-10 est situé sur une droite A dont les paramètres sont très différents de ceux de la droite B, sur laquelle se trouve le groupe 22-34. Au cours des deux périodes de développement considérées, la longueur et la largeur des feuilles adultes sont en corrélation étroite. Par contre, pour les feuilles 11 à 21, il y a peu d'évolution de la longueur et de la largeur : ce groupe de feuilles correspond à une phase de transition entre deux états physiologiques de la plante (SCHWARTZ *et al.*, 1951) ; les points 11 à 21 sont concentrés entre les extrémités supérieures des droites A et B.

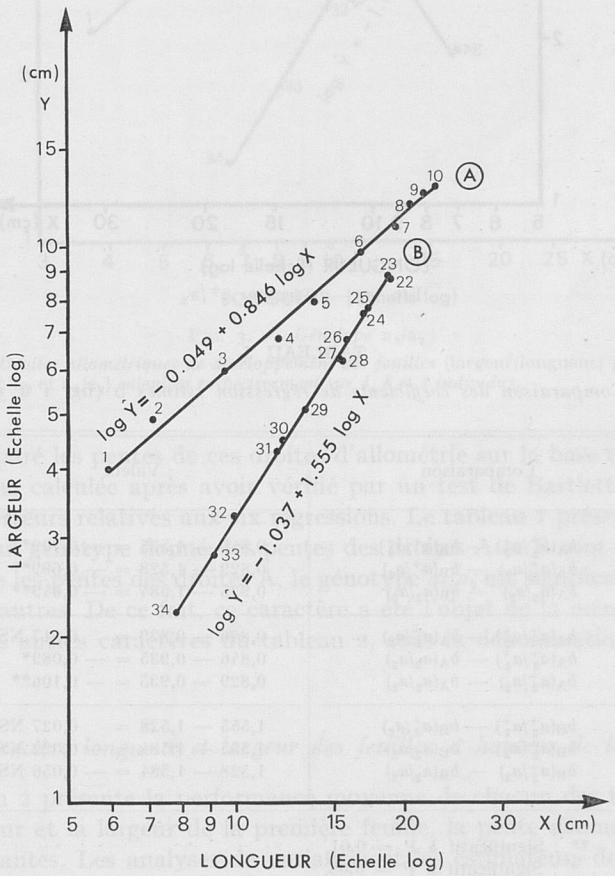


FIG. 1. — *Génotype* a_2^+/a_2^+

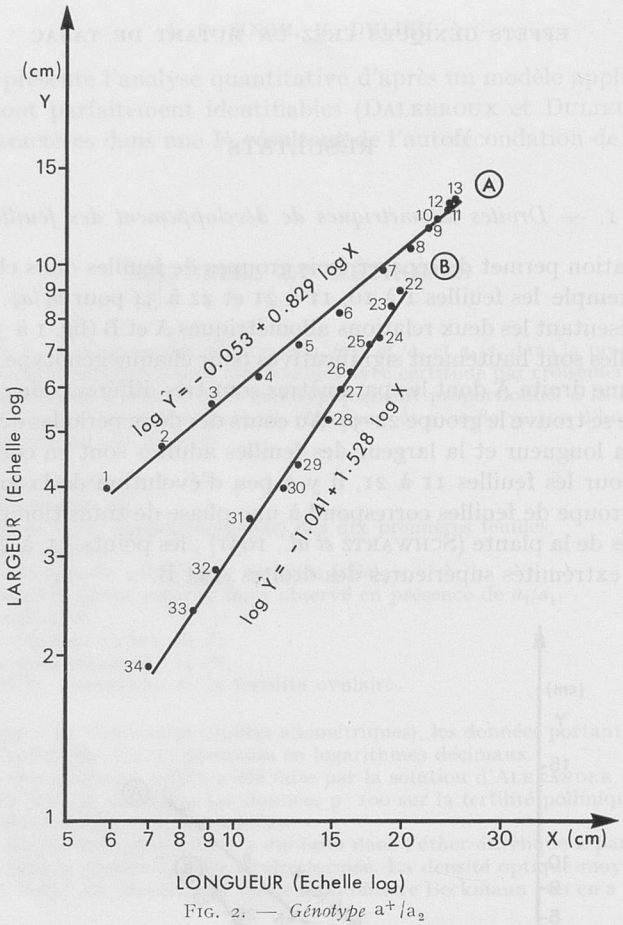


FIG. 2. — *Génotype* a^+/a_2

TABLEAU I

Comparaison des coefficients de régression estimés b (fig. 1 à 3)

Comparaison	Valeur
$b_A(a_2^+/a_2^+) - b_B(a^+/a_2^+)$	0,846 — 1,555 = — 0,709**
$b_A(a_2^+/a_2) - b_B(a^+/a_2)$	0,829 — 1,528 = — 0,699**
$b_A(a_2/a_2) - b_B(a_2/a_2)$	0,935 — 1,584 = — 0,649**
$b_A(a_2^+/a_2^+) - b_A(a_2^+/a_2)$	0,846 — 0,829 = 0,017 NS
$b_A(a_2^+/a_2^+) - b_A(a_2/a_2)$	0,846 — 0,935 = — 0,089*
$b_A(a_2^+/a_2) - b_A(a_2/a_2)$	0,829 — 0,935 = — 0,106**
$b_B(a_2^+/a_2^+) - b_B(a_2^+/a_2)$	1,555 — 1,528 = 0,027 NS
$b_B(a_2^+/a_2^+) - b_B(a_2/a_2)$	1,555 — 1,584 = — 0,029 NS
$b_B(a_2^+/a_2) - b_B(a_2/a_2)$	1,528 — 1,584 = — 0,056 NS

** : Significatif à P = 0,01.
* : Significatif à P = 0,05.
NS : Non significatif.

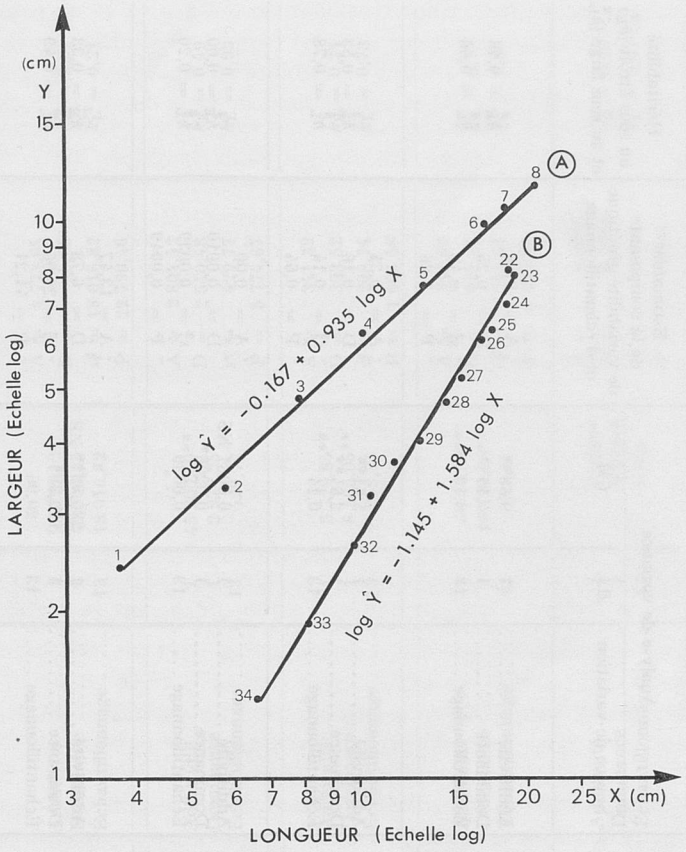


FIG. 3. — *Génotype* a_2/a_2

FIG. 1, 2 et 3. — *Droites allométriques de développement des feuilles* (largeur/longueur) *pour les trois génotypes* (a_2^+/a_2^+, a_2^+/a_2 et a_2/a_2) *calculées respectivement sur 4, 8 et 4 individus.*

On a comparé les pentes de ces droites d'allométrie sur la base d'une variance-erreur commune calculée après avoir vérifié par un test de Bartlett l'homogénéité des variances-erreurs relatives aux six régressions. Le tableau 1 présente ces comparaisons. Pour un génotype donné, les pentes des droites A et B sont différentes. En ce qui concerne les pentes des droites A, le génotype a_2/a_2 est significativement différent des deux autres. De ce fait, ce caractère a été l'objet de la même étude quantitative que les autres caractères du tableau 2, sous la dénomination « pente allométrique A ».

2. — *Caractère longueur et largeur des feuilles et hauteur de la plante*

Le tableau 2 présente la performance moyenne de chacun des trois génotypes pour la longueur et la largeur de la première feuille, la pente allométrique A et la hauteur des plantes. Les analyses de variances et les estimateurs des composantes de variabilité sont présentés dans le tableau 2. Les héritabilités au sens étroit ($\hat{h}^2_E$)

TABLEAU 2

Caractères longueur et largeur des feuilles et hauteur de la plante

Caractère	Génotype	Valeur moyenne	Valeur relative	Analyse de variance			Estimateur de la composante de variabilité génétique et d'échantillonnage	Héritabilité au sens étroit ($\hat{h}^2_E$) et au sens large ($\hat{h}^2_L$)
				Source de variation	d.l.	CM		
Longueur de la première feuille (cm)	a_2^+/a_2^+	5,95	1,00	Additivité	1	9,68**	$\hat{A} = 0,58$	$\hat{h}^2_E = 0,46$
	a_2^+/a_2	5,90	0,99	Dominance	1	4,41**	$\hat{D} = 0,25$	$\hat{h}^2_L = 0,66$
	a_2/a_2	3,75	0,63	Échantillonnage	13	0,43	$s^2_e = 0,43$	
							$\hat{P} = 1,26$	
Largeur de la première feuille (cm)	a_2^+/a_2^+	4,05	1,00	Additivité	1	5,61**	$\hat{A} = 0,34$	$\hat{h}^2_E = 0,53$
	a_2^+/a_2	4,02	0,99	Dominance	1	2,64**	$\hat{D} = 0,16$	$\hat{h}^2_L = 0,78$
	a_2/a_2	2,37	0,58	Échantillonnage	13	0,14	$s^2_e = 0,14$	
							$\hat{P} = 0,64$	
Pente allométrique A	a_2^+/a_2^+	0,841	1,00	Additivité	1	0,0081 NS	$A = 0,00$	$\hat{h}^2_E = 0,00$
	a_2^+/a_2	0,801	0,95	Dominance	1	0,0206*	$\hat{D} = 0,0010$	$\hat{h}^2_L = 0,20$
	a_2/a_2	0,905	1,08	Échantillonnage	13	0,0039	$s^2_e = 0,0039$	
							$\hat{P} = 0,0049$	
Hauteur des plantes (cm)	a_2^+/a_2^+	76,25	1,00	Additivité	1	236,53**	$A = 13,47$	$\hat{h}^2_E = 0,33$
	a_2^+/a_2	76,50	1,00	Dominance	1	129,39*	$\hat{D} = 6,78$	$\hat{h}^2_L = 0,49$
	a_2/a_2	65,37	0,86	Échantillonnage	13	20,96	$s^2_e = 20,96$	
							$\hat{P} = 41,21$	

$\hat{A}$ et $\hat{D}$ sont les estimateurs des composantes de variance génétique imputables respectivement à l'additivité et à la dominance ; s^2_e est l'estimateur de la variance-erreur ; $\hat{P} = \hat{A} + \hat{D} + s^2_e$ est l'estimateur de la variance phénotypique.

TABLEAU 3. — *Caractères chlorophylliens et de fertilité*

Caractère	Génotype	Valeur moyenne	Valeur relative	Analyse de variance			Estimateur de la composante de variabilité génétique et d'échantillonnage	Héritabilité au sens étroit ($\hat{h}^2_E$) et au sens large ($\hat{h}^2_L$)
				Source de variation	d.l.	CM		
Chlorophylle totale (µg/g)	a_2^+/a_2^+ a_2^+/a_2 a_2/a_2	1 439,75 1 219,87 1 222,50	1,00 0,85 0,85	Additivité ..... Dominance ..... Échantillonnage	1 1 13	94 395,12* 49 506,25 NS 18 016,82	$\hat{A} = 4\,773,64$ $\hat{D} = 0,00$ $s^2_{\bar{x}} = 18\,016,82$ $\hat{P} = 22\,790,46$	$\hat{h}^2_E = 0,21$ $\hat{h}^2_L = 0,21$
Chlorophylle totale en présence de a_1-a_1 (µg/g)	a_2^+/a_2^+ a_2^+/a_2 a_2/a_2	150,50 48,00 0,00	1,00 0,32 0,00	Additivité ..... Dominance ..... Échantillonnage	1 1 13	45 300,50** 2 970,25* 429,77	$\hat{A} = 2\,804,42$ $D = 2\,540,48$ $s^2 = 429,77$ $\hat{P} = 5\,774,67$	$\hat{h}^2_E = 0,49$ $\hat{h}^2_L = 0,93$
Poids des capsules sèches P_1 (mg)	a_2^+/a_2^+ a_2^+/a_2 a_2/a_2	338,27 352,02 284,74	1,00 1,04 0,84	Additivité ..... Dominance ..... Échantillonnage	1 1 13	5 729,85** 6 565,05** 268,74	$\hat{A} = 341,32$ $\hat{D} = 393,52$ $s^2_{\bar{x}} = 268,74$ $\hat{P} = 1\,003,58$	$\hat{h}^2_E = 0,34$ $\hat{h}^2_L = 0,73$
Poids des graines par capsule P_2 (mg)	a_2^+/a_2^+ a_2^+/a_2 a_2/a_2	216,10 239,09 161,12	1,00 1,11 0,75	Additivité ..... Dominance ..... Échantillonnage	1 1 13	6 044,50** 10 190,90** 242,61	$\hat{A} = 362,62$ $\hat{D} = 621,77$ $s^2_{\bar{x}} = 242,61$ $\hat{P} = 1\,227,00$	$\hat{h}^2_E = 0,29$ $\hat{h}^2_L = 0,80$
$\frac{P_2}{P_1}$	a_2^+/a_2^+ a_2^+/a_2 a_2/a_2	0,638 0,679 0,569	1,00 1,06 0,89	Additivité ..... Dominance ..... Échantillonnage	1 1 13	0,010** 0,023** 0,001	$\hat{A} = 0,0006$ $\hat{D} = 0,0014$ $s^2_{\bar{x}} = 0,001$ $\hat{P} = 0,003$	$\hat{h}^2_E = 0,20$ $\hat{h}^2_L = 0,67$
Fertilité pollinique p. 100 (après transformation angulaire)	a_2^+/a_2^+ a_2^+/a_2 a_2/a_2	70,37 69,91 36,02	1,00 0,99 0,51	Additivité ..... Dominance ..... Échantillonnage	1 1 13	2 359,84** 1 117,73** 2,33	$\hat{A} = 147,34$ $\hat{D} = 69,71$ $s^2 = 2,33$ $\hat{P} = 219,38$	$\hat{h}^2_E = 0,67$ $\hat{h}^2_L = 0,99$

et au sens large ($\hat{h}^2_L$) varient respectivement de 0,0 à 0,53 et de 0,20 à 0,78. Ceci suggère des modes d'action différents pour les caractères étudiés. En ce qui concerne la pente allométrique A, on trouve une héritabilité au sens étroit ($\hat{h}^2_E$) statistiquement nulle, la variabilité génétique étant entièrement de type dominant (tabl. 2).

3. — *Caractères chlorophylliens et de fertilité*

Pour les caractères chlorophylliens et les fertilités mâle et femelle, les performances moyennes des trois génotypes, les analyses de variances et les estimateurs des composantes de variabilité sont présentés au tableau 3. L'héritabilité au sens étroit ($\hat{h}^2_E$) varie de 0,20 à 0,67 et l'héritabilité totale ($\hat{h}^2_L$) varie de 0,21 à 0,99. A nouveau, ceci montre que le mode d'action est différent pour chacun des caractères concernés.

Pour la fertilité pollinique, l'additivité et la variabilité génétique totale sont respectivement responsables de 67 et 99 p. 100 de la variabilité phénotypique. En ce qui concerne la fertilité ovulaire (poids des capsules sèches, P_1, poids des graines par capsule, P_2) et le rapport (P_2/P_1), les héritabilités au sens étroit et au sens large varient respectivement de 0,20 à 0,34 et de 0,67 à 0,80. Ainsi, la mutation a_2 a un effet très marqué sur les fertilités pollinique et ovulaire qui se transmettent en même temps que la mutation. Donc, le mode d'action de a_2 sur la fertilité est sporophytique.

4. — *Fertilité pollinique en relation avec* a_2 *et une autre mutation* yg, *en présence de* a_1^+/a_1^+

En ce qui concerne la quantité de chlorophylle, le génotype a_2/a_2 extériorise un phénotype pratiquement sauvage, tandis que yg/a_2 et yg/yg sont « yellow-green ». On constate donc que, pour les deux caractères considérés, yg est dominant sur a_2. Les fertilités polliniques de yg/yg et yg/a_2 ne sont pas statistiquement différentes de celle du témoin sauvage. Il en est tout autrement de a_2/a_2 qui montre une fertilité pollinique de 36 p. 100 seulement (tabl. 4).

TABLEAU 4

Fertilité pollinique et couleur des feuilles en relation avec les mutations yg *et* a_2 *en présence de* a_1^+/a_1^+

Génotype	Fertilité pollinique (%)	Couleur des feuilles
yg/yg	93,2	jaune-vert (yellow-green)
yg/a_2	87,9	jaune-vert (yellow-green)
a_2/a_2	36,0	vert

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

1. Étant donné les différences nombreuses entre les génotypes a_2^+/a_2^+, a_2^+/a_2 et a_2/a_2, tous sur fond génétique uniforme, on est amené à considérer l'alternative suivante :

(*i*) ou bien le locus a_2^+-a_2 est responsable d'effets pléiotropiques vrais de natures aussi différentes que la différenciation des chloroplastes, la forme des feuilles et la fertilité ; dans ce cas, a_2 est une mutation vraie de a_2^+ ;

(*ii*) ou bien a_2 est une mutation englobant plus d'un locus, et qui empiète sur tout ou partie de a_2^+.

2. Le fait que les valeurs estimées de l'héritabilité sont différentes pour la plupart des caractères étudiés (tabl. 5), elles varient de 0,0 à 0,67 pour $\hat{h}^2_E$ et de 0,20 à 0,99 pour $\hat{h}^2_L$, suggère l'existence de modes d'action différents pour déterminer les caractères concernés. Ceci serait plutôt favorable à la deuxième hypothèse (1. *ii*).

3. Si a_2 est une mutation polygénique (1. *ii*), elle peut consister : *a*) en une délétion ou *b*) en une mutation non-sens inactivant une série de gènes adjacents, *c*) en une mutation rendant « missense » cette série de gènes. A l'appui de la première hypothèse (1. *ii* et 3. *a*), on peut avancer le mode d'action généralement récessif de a_2 sauf en présence du gène inhibiteur a_1 (Dulieu, 1974, 1975).

4. Des mutations de type a_2 au même locus ont été obtenues par variation somatique à partir de a_2^+/a_2^+ (Dulieu, 1975). Certaines d'entre elles donnent lieu à un taux important de non-transmission, alors que d'autres sont transmises normalement. Par ailleurs, aucune réversion n'a été observée pour cette mutation. Ces faits sont en faveur de l'hypothèse de délétion (1. *ii* et 3. *a*).

5. Par contre, la mutation a_2 n'est pas létale même à l'état homozygote, et sa fréquence dans la ségrégation gamétique de l'hétérozygote est égale à 0,5. Il est certain que ceci n'est pas favorable à l'hypothèse (1. *ii* et 3. *a*) d'une délétion portant sur plusieurs loci.

6. La stérilité pollinique ne peut être invoquée pour étayer l'hypothèse de délétion (1. *ii* et 3. *a*), car elle n'est pas totale pour a_2/a_2 et est régulièrement transmise par voie sexuée mâle et femelle. Il s'agit donc d'une stérilité de nature sporophytique.

7. Le mutant a_2 est récessif vis-à-vis de *yg*, allèle de a_2^+, pour la fertilité pollinique. Le génotype *yg*/*yg* entraîne une fertilité pollinique normale, alors que a_2/a_2 est un mutant nettement défavorable. Ceci peut signifier que *yg*, contrairement à a_2 ne concerne pas le (ou les) locus (loci) impliqué (s) dans la détermination de ce caractère. Dans ces conditions, et en admettant que cette stérilité est sporophytique dans la plupart des cas (points 5 et 6), l'hybride yg/a_2 est normal. Ceci supporte l'hypothèse (1. *ii* et 3. *a* ou *b*) selon laquelle a_2 est une mutation polygénique englobant tout ou partie de a_2^+.

8. En ce qui concerne le caractère « quantité de chlorophylle », le génotype a_2/a_2 détermine pratiquement un caractère sauvage. Ceci est probablement dû d'une part à ce que a_2 est amorphe vis-à-vis de son homologue a_2^+ (Dulieu, 1974 et 1975) et, d'autre part, à ce que la présence de deux facteurs sauvages aux loci a_1^+-a_1 et a_2^+-a_2, en l'absence du gène antagoniste a_1 (Dulieu, 1974 et 1975) sont suffisants pour déterminer un phénotype sauvage (Dulieu et Dalebroux, 1976). Par contre les génotypes

TABLEAU 5

Estimateurs des paramètres relatifs aux caractères présentant une variabilité génétique significative

Caractère	$\hat{\mu}$	$s^2_{\hat{\mu}}$	$\hat{\alpha}_2 = -\hat{\alpha}_1$	$s^2_{\hat{\alpha}_2} = s^2_{\hat{\alpha}_1}$	$\hat{\delta}_{22} = \hat{\delta}_{11} = -\hat{\delta}_{21}$	$s^2_{\hat{\delta}_{22}} = s^2_{\hat{\delta}_{11}} = s^2_{\hat{\delta}_{21}}$	$\hat{A}$	$\hat{D}$	$s^2_{\hat{e}}$	$\hat{h}^2_E$	$\hat{h}^2_L$
Longueur de la première feuille (cm)	5,37	0,03	0,55	0,01	— 0,52	0,03	0,58	0,25	0,43	0,46	0,66
Largeur de la première feuille (cm)	3,62	0,01	0,42	0,004	— 0,41	0,01	0,34	0,16	0,14	0,53	0,78
Pente allométrique A	0,8371	0,0002	0,00	—	0,0359	0,0002	0,00	0,001	0,0039	0,00	0,20
Hauteur des plantes (cm) ..	73,66	1,31	2,72	0,65	— 2,84	1,31	13,47	6,78	20,96	0,33	0,49
Chlorophylle totale (μg/g) ..	1 275,50	1 126,05	54,31	563,03	0,00	—	4 773,64	0,00	18 016,82	0,21	0,21
Chlorophylle totale en présence de a_1/a_1 (μg/g)	61,62	26,86	37,62	13,43	13,62	26,86	2 804,42	2 540,48	429,77	0,49	0,93
Poids des capsules sèches P_1 (mg)	331,77	16,80	13,38	8,40	— 20,26	16,80	341,32	393,52	268,74	0,34	0,73
Poids des graines/cap. (mg) P_2	213,85	15,16	13,74	7,58	— 25,24	15,16	362,62	621,77	242,61	0,29	0,80
Rapport P_2/P_1	0,641	0,00006	0,0173	0,00003	— 0,038	0,00006	0,0006	0,0014	0,001	0,20	0,67
Fertilité pollinique p. 100 (après transformation angulaire)	61,55	0,15	8,59	0,07	— 8,36	0,15	147,34	69,71	2,33	0,67	0,99

yg/a_2 et yg/yg déterminent un phénotype muté « yellow-green » qui témoigne de la dominance de yg sur a_2. Il est possible que cette situation soit due au fait que, yg n'étant pas amorphe, celui-ci entre en compétition avec a_1^+/a_1^+ pour un facteur limitant et rende la dose de deux gènes a_1^+ insuffisante pour exprimer un caractère chlorophyllien sauvage. Cette hypothèse est discutée en détail par DULIEU et DALEBROUX (1976) dans une étude quantitative des effets conjugués de a_1^+-a_1 et a_2^+-a_2 sur la chlorophylle produite. Ce fait qu'une mutation au locus a_2^+ peut être antimorphe pour le caractère « quantité de chlorophylle » sans avoir les effets de la mutation a_2 sur les autres caractères, plaide en faveur de la nature ponctuelle et intragénique de la mutation yg et de la nature polygénique de la mutation a_2 (1. *ii* et 3. *b* ou *c*). La mutation a_2 recouvre tout ou partie du gène yg.

La conclusion provisoire est que a_2 est une délétion suffisamment petite pour ne pas entraîner de sélection gamétique statistiquement décelable, mais qu'elle modifie le fonctionnement d'autres gènes, généralement responsables de caractères quantitatifs. Cette pléiotropie peut être due soit à la perte de quelques gènes adjacents, soit à leur inactivation, par exemple par une hétérochromatinisation provoquée par la délétion. En effet, une délétion intercalaire, même petite, pourrait rapprocher un groupe de gènes d'une zone hétérochromatique, les soumettant à son influence répressive. Ainsi le gène *Sulf*$^+$ de la Tomate peut être fréquemment réprimé sous la forme *Sulf* parce qu'il jouxte une région hétérochromatique (HAGEMANN et SNOAD, 1971).

Reçu pour publication en septembre 1975.

REMERCIEMENTS

Nous remercions les Docteurs P. DOMMERGUES, Directeur de Recherche, I.N.R.A. et M. A. DALEBROUX, Fonctionnaire Scientifique à la C.C.E., pour leur aide dans la préparation et la discussion de ce travail.

SUMMARY

GENIC EFFECTS AND GENETIC VARIABILITY FOR SEVERAL CHARACTERS IN A MONOHYBRID MUTANT OF *NICOTIANA TABACUM* L.

In order to determine the nature of the a_2 mutation in *Nicotiana tabacum* L., a study was undertaken to estimate the genic effects and the genetic variability components for a number of characters, namely :

— length and width of leaf,
— allometry of leaf size (width/length),
— plant height,
— chlorophyll content,
— chlorophyll content in the presence of a_1/a_1,
— pollen and ovule fertilities.

It can be provisionally concluded that mutation a_2 could be a deletion of sufficiently small size not to interfere significantly with gametic fertility. However, it modifies the function of other genes, generally involved in the expression of quantitative traits. This pleiotropy could be due either to the loss of a few adjacent genes, or to their inactivation, for example by heterochromatinization.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ALEXANDER M. P., 1969. Differential staining of aborted and non-aborted pollen. *Stain Technol.*, **44**, 117-122.

DALEBROUX M. A., DULIEU H. L., 1974. Estimation aux moindres carrés des effets géniques chez un organisme diploïde : un locus a deux allèles. Application à *N. tabacum*. *Genetica*, **45** (1), 61-70.

DULIEU H. L., 1974. Somatic variations on a yellow mutant in *Nicotiana tabacum* L. (a_1^+/a_1 a_2^+/a_2). I. Non-reciprocal genetic events occurring in leaf cells. *Mutation Res.*, **25**, 289-304.

DULIEU H. L., 1975. Somatic variations on a yellow mutant in *Nicotiana tabacum* L. (a_1^+/a_1 a_2^+/a_2). II. Reciprocal genetic events occurring in leaf cells. *Mutation Res.*, **28**, 69-77.

DULIEU H. L., DALEBROUX M. A., 1976. Composantes de variabilité et interactions fonctionnelles aux loci a_1^+-a_1 et a_2^+-a_2 de *Nicotiana tabacum* L. *Ann. Amélior. Plantes*, **26** (4), 569-577.

DULIEU H. L., DE BOELPAEPE R., DESHAYES A., 1971. Sur l'existence spontanée de recombinaisons somatiques chez un mutant de *Nicotiana xanthi* n. c. et leur induction par le rayonnement γ ; premières études génétiques. *C. R. Acad. Sci., Paris, Sér.* D, **272**, 3287-3290.

HAGEMANN R., SNOAD B., 1971. Paramutation (somatic conversion) at the *Sulfurea* locus of *Lycopersicon esculentum*. V. The localisation of Sulf. *Heredity*, **27** (3), 409-418.

SCHWARTZ D. A., RENIER A., FARDY A., CUZIN J., 1951. Étude quantitative de la croissance du Tabac. III. Morphogenèse foliaire. *Ann. Inst. exptl. Tabac, Bergerac*, **1** (2), 1-41.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (4), 591-605.

POSSIBILITÉS DE SÉLECTION DU MAÏS EN TANT QUE PLANTE FOURRAGÈRE (1)

A. GALLAIS*, M. POLLACSEK** et L. HUGUET*

avec la collaboration technique de H. BERTHET, J.-C. BERTHOLLEAU, R. TRAINEAU (*)

* *Station d'Amélioration des Plantes fourragères, I. N. R. A., 86600 Lusignan*

** *Station d'Amélioration des Plantes, Centre de Recherches de Clermont-Ferrand, I. N. R. A., Domaine expérimental de Crouelle, 63000 Clermont-Ferrand*

RÉSUMÉ

Après avoir rappelé que différents éléments déjà connus peuvent faire douter de l'importance de la proportion de grain comme seul critère de qualité, nous présentons les résultats d'une étude, sur un grand nombre d'hybrides expérimentaux, de la variabilité génétique de critères de valeur alimentaire et de rendement en matière sèche au stade optimum d'ensilage. Il apparaît que la quantité consommée est beaucoup plus variable que la digestibilité. Pour expliquer ces variations, il faut considérer à la fois la qualité de la partie non grain et la proportion de grain. De plus la proportion de grain est sans relation avec le rendement total en matière sèche. Les possibilités de sélection sont discutées : il apparaît que des progrès sur le rendement peuvent être combinés à des progrès sur la valeur alimentaire.

INTRODUCTION

Depuis quelques années le Maïs est de plus en plus utilisé comme plante fourragère, surtout en ensilage de la plante entière, plus rarement en déshydratation. En France, de 1969 à 1975 les surfaces sont passées de 300 000 ha à 900 000 ha environ.

Ce développement spectaculaire est dû au fait que cette espèce est à la fois très productive en matière sèche de bonne digestibilité, qu'elle est facile à conserver

(1) Communication présentée à la 8e Réunion Eucarpia de la Section, Maïs-Sorgho, Versailles 15-17 septembre 1975.

en ensilage et que sa culture est entièrement mécanisable. Son seul défaut assez important est sans doute sa faible teneur en protéines.

Les variétés utilisées pour cette production fourragère sont les mêmes que pour la production de grain. La seule différence réside dans le choix de la précocité et dans la densité de culture qui doit être de 15 à 20 p. 100 supérieure à celle réalisée pour le maïs grain. Il est conseillé (BLOC, 1971) de retenir la variété la plus productive en grain qui permet d'avoir une teneur en matière sèche (% MS) de la plante entière d'environ 30 p. 100 au moment de l'ensilage (cette teneur étant considérée comme un optimum). En France, cela permet dans les zones au nord de la Loire de cultiver des variétés un peu plus tardives que celles utilisées pour le grain.

Avec les variétés actuelles, ces précautions permettent d'avoir une certaine sécurité pour le rendement en matière sèche et pour la valeur alimentaire. Elles reposent sur deux principes qui n'ont pas toujours été vérifiés avec des variétés assez différentes et dans des milieux assez variés : le rendement en grain déterminerait le rendement en matière sèche totale et la proportion de grain déterminerait la valeur alimentaire. Pourtant, au stade optimum d'ensilage, le grain, en conditions « moyennes », ne constitue que 40 à 50 p. 100 de la matière sèche. La contribution de la partie non grain tant aux variations de rendement qu'aux variations de qualité semble donc difficile à négliger *a priori*. En ce qui concerne plus précisément la valeur alimentaire, différents éléments peuvent déjà faire douter de l'importance attachée à la proportion de grain :

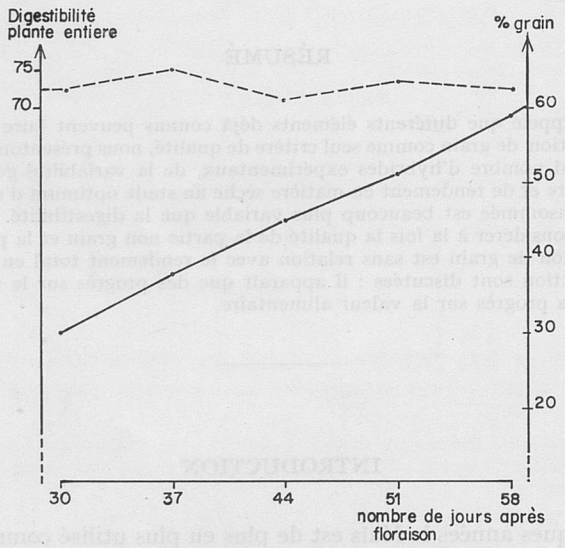


FIG. 1. — *Évolutions de la digestibilité de la plante entière mesurée sur moutons et de la proportion de grains.*
(Résultats Station de Lusignan, 1969, moyenne variétés *INRA 258* et *INRA 260*)

— au cours de la vie de la plante, de la fécondation au stade d'ensilage, la proportion de grains augmente, alors que la digestibilité reste stable (DEMARQUILLY, 1969 ; ANDRIEU, 1970, 1974) (fig. 1) : l'augmentation attendue de la qualité est

compensée par une diminution de digestibilité de la partie non-grain (fig. 2). Si l'on empêche la fécondation, on obtient une plante pratiquement aussi digestible qu'une plante fécondée (tabl. 1), mais il est difficile d'atteindre une teneur en matière sèche

TABLEAU I

Influence de la fécondation sur la qualité de la tige

	Fécondé	Non fécondé
Hybrides tardifs (à 30 % MS) (A.G.P.M. Pau, 1971)		
Cellulose (%)	31,5	25,5
Digestibilité *in vitro*	51	62
Hybrides précoces, à même date (S.A.P.F. Lusignan, 1971) (30 p. 100 MS hybrides fécondés)		
Digestibilité *in vitro* des tiges	55	73

proche de 30 p. 100. Ce fait a été observé par différents chercheurs (SCHMID, 1969 ; CUMMINS, 1971 ; MARTEN, 1974). Sur le plan physiologique cet antagonisme qualité de la tige — proportion de grain s'explique très bien : dans un cas, les produits de la photosynthèse et de la protéosynthèse s'accumulent dans le grain, dans l'autre cas, ils restent dans la tige.

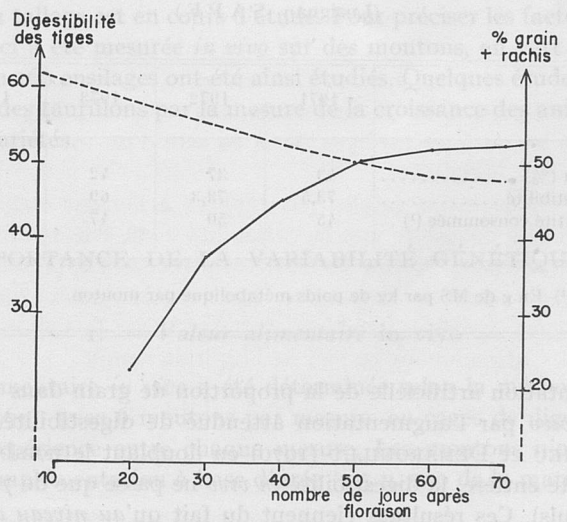


FIG. 2. — *Évolutions de la digestibilité* in vitro *de la tige et de la proportion de grains*
(Moyenne d'hybrides simples de la précocité de *INRA 258*.
Résultats Station de Lusignan, 1970)

— l'augmentation de la densité de culture se traduit par une chute de la proportion de grain mais on n'observe pas toujours une diminution de la digestibilité de la plante entière (THOMSON, 1968), bien qu'à forte densité les plantes soient légèrement plus tardives (résultats obtenus à Lusignan, tabl. 2). Cette observation reflète encore l'antagonisme proportion de grain — qualité de la tige.

TABLEAU 2

Influence de la densité et du stade sur la digestibilité in vivo *de la matière organique.*
Variété *INRA 258* (Lusignan, 1972)

Densité	Stade (% MS)	Digestibilité	Grain (%)
80 000	26	76	36
	34	77	47
130 000	26	75	31
	34	75,3	41

— la variation de la proportion de grain due à l'effet année (climat, sécheresse surtout, comme en 1974) ne se traduit pas par une variation de digestibilité ou de quantité consommée (tabl. 3).

TABLEAU 3

Influence de l'année sur la proportion de grain et la valeur alimentaire
(Lusignan, S.A.P.F.)

	1971	1972	1973	1974
Grain (%)	43	37	42	29
Digestibilité	73,5	73,3	69	71
Quantité consommée (1)	45	50	47	45

(1) En g de MS par kg de poids métabolique par mouton.

— l'augmentation artificielle de la proportion de grain dans un ensilage, ne se traduit pas *in vivo* par l'augmentation attendue de digestibilité. Dans une expérience de ANDRIEU et DEMARQUILLY (1970) en doublant le nombre d'épis dans un ensilage de plante entière, la digestibilité *in vivo* ne passe que de 71,3 à 73,6 (et 74,6 pour les épis seuls). Ces résultats viennent du fait qu'*au niveau de l'animal*, il y a antagonisme entre la digestion de cellulose et la proportion de glucides solubles + amidon. (EL SHALZY, 1961).

Ainsi, que la cause se trouve au niveau de la plante, ou au niveau de l'animal,

il apparaît que les variations de la proportion de grain dans la plante dans un intervalle assez large (30 à 50 p. 100) ne sont pas suffisantes pour expliquer les variations de qualité ; il faut aussi tenir compte de la partie non-grain (tiges + gaines + limbes + spathes + pédoncule + rafles).

L'importance apparente de la partie non-grain, tant pour le rendement que pour la qualité, amène à se poser la question de savoir s'il ne serait pas possible de concevoir des variétés mieux adaptées à une utilisation fourragère que les variétés actuelles. Au stade optimum d'ensilage (teneur en matière sèche de la plante entière de 30 p. 100 environ) ces variétés pourraient avoir une valeur alimentaire de la matière organique supérieure (digestibilité, quantité consommée), une teneur en protéines plus importante et un rendement en matière sèche plus élevé, l'idéal étant de combiner ces trois sources de progrès.

Depuis 1970 une expérimentation a donc été entreprise à la Station d'Amélioration des Plantes fourragères de Lusignan pour déterminer les caractéristiques d'une variété maïs-fourrage. Cette étude a été réalisée en collaboration avec l'Association générale des Producteurs de Maïs et les Stations d'Amélioration des Plantes de Mons en Chaussée (Somme), de Montpellier (Hérault) et de Clermont-Ferrand (Puy de Dôme). Nous avons recherché, au stade optimum d'ensilage (27-35 p. 100 de matière sèche de la plante entière), d'une part les caractères qui assurent la valeur alimentaire maximum (digestibilité, quantité consommée, teneur en protéines) et d'autre part ceux qui permettent le rendement en matière sèche maximum, associé à une bonne qualité. L'étude a porté dans une première étape sur des variétés commerciales puis sur des hybrides expérimentaux, ayant la morphologie des hybrides grains actuels. Quelques hybrides nains (brachytic 2) et à port dressé (« liguleless » = sans ligule) ont cependant été expérimentés. L'intérêt du caractère « brown midrib » (bm 3) (Barnes *et al.*, 1971) entraînant une faible teneur en lignine a été vérifié ; l'expérimentation se poursuit encore sur ce caractère. L'influence de la prolificité en épis et du tallage est en cours d'étude. Pour préciser les facteurs de la valeur alimentaire, celle-ci a été mesurée *in vivo* sur des moutons, en vert et au niveau de l'ensilage. Environ 160 ensilages ont été ainsi étudiés. Quelques études ont également eu lieu au niveau des taurillons par la mesure de la croissance des animaux alimentés avec différentes variétés.

IMPORTANCE DE LA VARIABILITÉ GÉNÉTIQUE

1. — *Valeur alimentaire* in vivo

La valeur alimentaire *in vivo* a été déterminée selon la méthode indiquée par Demarquilly (1969), avec 6 moutons par mesure, en cages de digestibilité, et une semaine de pré-expérience entre chaque mesure. Les moutons n'ont reçu que du maïs, avec une complémentation à base d'urée (1,5 p. 100 de la matière sèche distribuée).

Nous ne présentons ici que les résultats de digestibilité de la matière organique et ceux de la quantité consommée exprimée en grammes de matière sèche ingérée par kilo de poids métabolique, par mouton (g/kg $p^{0,75}$).

Au niveau des variétés commerciales.

L'étude réalisée au stade vert ou en ensilage a fait ressortir des différences entre variétés, ou entre traitements variété × densité × stade de récolte. Le tableau 4 donne les moyennes sur différentes conditions pour quelques variétés.

TABLEAU 4

Exemple de différences entre variétés à 30-35 p. 100 MS de la plante entière (1)
(moyenne de plusieurs essais)
Lusignan, 1970, 1971, 1972

Variété	Digestibilité	Quantité consommée
INRA 258	73,6	58
INRA 260	70,6	57,2
LG 11	72,1	56
FUNK'S 245	73,6	51
INRA 310	70,5	46
INRA 400	71,5	51
ANJOU 360	70	46
IOWA 4417	72	48

(1) à 70-80 000 pl/ha.

Pour la digestibilité de la matière organique les différences sont de faible amplitude, de l'ordre de 5 p. 100 en valeur relative (2). *INRA 258* apparaît avoir une très bonne digestibilité dans tous les essais.

Pour la quantité consommée, une plus grande variation apparaît entre traitements (de l'ordre de 10 à 15 p. 100 (2)). C'est aussi un caractère plus influencé par le milieu que la digestibilité. A stade égal, les variétés précoces semblent mieux consommées que les variétés tardives. Mais au sein d'un même groupe de précocité des différences sont observables.

Ces différences bien que faibles par rapport à l'erreur expérimentale ne sont pas à négliger si l'on considère que la variabilité a dû être réduite par la sélection vers un même objectif. Au niveau des variétés précoces, l'apparentement de nombre d'entre elles réduit encore la variabilité. La structure même du type de variétés (hybride trois voies, hybrides doubles) restreint aussi la variation par rapport à celle qui peut être attendue au niveau de l'hybride simple.

Au niveau d'hybrides simples expérimentaux : (tabl. 5).

a) *Digestibilité* in vivo *et quantité consommée.*

L'amplitude de variation de la digestibilité *in vivo* apparaît légèrement plus importante qu'au niveau des variétés. Le coefficient de variation est de 3 à 4 p. 100. Pour la quantité consommée ce coefficient est beaucoup plus fort, il est de 10 à

(2) (Max-min)/moyenne × 100.

15 p. 100. L'hybride brachytic étudié (R 909 × R 943) a été à la fois très bien consommé et très digestible. Le premier hybride brown midrib (pauvre en lignine, bm 3) expérimenté, apporte par rapport à son témoin de précocité, non isogénique, un progrès de 6 p. 100 en digestibilité et de 11 p. 100 en quantité consommée. Des hybrides normaux dans leur groupe de précocité peuvent apporter des progrès de même ampleur, surtout en ce qui concerne la quantité consommée.

TABLEAU 5

Différences de valeur alimentaire in vivo *entre hybrides expérimentaux*
(Lusignan, 1972, 1973, 1975)

	Digestibilité	Quantité consommée
Témoin (*INRA 258*) (1)	73,6	57,8
Meilleur hybride (1)	75	62
Hybride le plus mauvais (1)	71	49
Hybride br 2 (R 909 × R 943) (1)	74,5	62
Hybride tardif brown-midrib (bm 3) (2)	69,4	52,6
Témoin normal (non isogénique) (2)	65,4	46,9
Hybride précoce bm 3 (2)	74,3	54,1
Témoin normal isogénique (2)	71,7	50,3

(1) En ensilage.
(2) En vert.

TABLEAU 6

Exemple de variabilités sur hybrides expérimentaux
Lusignan, 1973 (100 hybrides*) Stade 30 p. 100 MS

Caractère (1)	CV	Moyenne	Min.	Max.	Témoin (*INRA 258*)
Grain (%)	14	36,5	17	45	38
Diamètre T (mm)	7	21,7	18,6	27,4	21
Azote T	13,7	1,04	0,88	1,8	1,05
Cellulose T	6	29,6	26,2	34	28,8
Digestibilité T *in vitro*	7	53,6	44	66	53,6
Lignine T	15	6,1	4,4	8,9	6,1
Glucides T	25	15,2	8,5	24	16
Rendement (t/ha)	11	16	11	22	16

* De précocité comparable à *INRA 258* en 2 essais lattices 7 × 7.
(1) T = Tige.
CV = cœfficient de variation.

b) *Teneur en protéines.*

La teneur en protéines digestibles varie comme la teneur en protéines qui en conditions « normales », peut assez bien être mesurée par l'azote total (Kejdahl). La variation de ce caractère est assez importante (coefficient de variation de 7 à 14 p. 100). La teneur en protéines des tiges est aussi variable que celle de la plante entière (tabl. 6).

c) *Autres caractères ayant trait à la composition chimique de la plante.*

Différents indices de la qualité des tiges ont été étudiés sur une collection d'hybrides expérimentaux (tabl. 6). Parmi ceux-ci la teneur en lignine (1) et la teneur en glucides solubles sont les plus variables. Cependant la teneur en cellulose et la digestibilité *in vitro* sont suffisamment variables pour permettre une sélection efficace.

2. — *Rendement en matière sèche*

A stade égal une variation assez importante du rendement en matière sèche a été observée au niveau des hybrides expérimentaux (tabl. 6). Des hybrides « normaux » corné × denté ou corné × corné, dépassant le rendement du témoin *INRA 258* de 10 à 15 p. 100 ont été détectés. Certains hybrides prolifiques en épis ont eu un très bon comportement. Par contre, avec le matériel étudié, le caractère port dressé « liguleless » n'a rien apporté.

RECHERCHE DE FACTEURS DE LA VARIABILITÉ GÉNÉTIQUE

Si la valeur alimentaire est retenue comme objectif de sélection du maïs fourrage, il est important de trouver des caractères faciles à mesurer et en relation étroite avec sa variation génétique. Pour la teneur en protéines il sera possible de sélectionner directement. Il peut en être de même pour le rendement. Cependant la recherche des facteurs expliquant la variabilité génétique observée peut aider à définir le type de plante à sélectionner.

1. — *Facteurs de la valeur alimentaire* in vivo (tabl. 7)

a) *Digestibilité.*

Les résultats d'étude de corrélations (tabl. 7) entre les différents caractères montrent assez clairement que la digestibilité *in vivo* dépend à la fois de la proportion de grain et de la qualité de la partie non-grain. Le meilleur caractère permettant une prévision a été la digestibilité *in vitro* de la plante entière (2). La teneur en cellulose a en moyenne un effet défavorable. La teneur en azote n'a pas ou peu d'influence sur la digestibilité (un apport d'urée avait été réalisé pour tous les ensilages). L'étude des composantes principales de la variation et leur utilisation dans la régression orthogonale (Tomassone, 1968) montrent l'importance égale de la qualité du

(1) Selon Van Soest (1963).

(2) La digestibilité *in vitro* a été étudiée selon la méthode de Tilley et Terry (1963) modifiée par l'apport de sulfate d'ammonium (0,46 g/litre de jus de rumen), le jus de rumen étant obtenu à partir de vaches alimentées avec du foin de luzerne de très bonne qualité. La méthode a été adaptée par Lila (1976) pour des analyses en grand nombre.

TABLEAU 7

Corrélations entre composantes de la valeur alimentaire in vivo *en ensilage, et différents caractères, mesurés sur la plante au moment de l'ensilage*

Nombre d'hybrides étudiés : 20 en 1971, 27 en 1972, 36 en 1973, 32 en 1974

Caractères (1)	Digestibilité				Quantité consommée				Matière organique digestible ingérée			
	1971	1972	1973	1974	1971	1972	1973	1974	1971	1972	1973	1974
Grain (%)	0,37	0,50**	0,50**	NS	NS	0,40*	0,30	NS	NS	0,45*	0,50**	NS
MS PE (%)	NS	NS	NS	NS	NS	NS	— 0,43**	— 0,28	NS	NS	— 0,27	— 0,27 (*)
MS T (%)	NS	— 0,50**	NS	NS	NS	— 0,50**	NS	— 0,55**	NS	— 0,50**	— 0,50**	— 0,55**
MS Grain (%)	NS	NS	— 0,4*	NS	0,50*	NS	— 0,4*	— 0,33*	0,50*	NS	— 0,40	— 0,33 (*)
Azote PE	NS	NS	0,4*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0,40*	NS
Azote T	NS	0,60**	NS	0,30 (*)	0,60**	NS	NS	NS	0,71**	NS	NS	0,28 (*)
Cellulose PE	NS	NS	— 0,60**	— 0,48**	NS	NS	NS	— 0,43*	NS	— 0,40*	— 0,40 (*)	— 0,54**
Cellulose T	NS	— 0,40*	— 0,48**	— 0,26	NS	NS	NS	— 0,30 (*)	NS	— 0,40*	— 0,32 (*)	— 0,42*
Digestibilité PE *in vitro*	0,60**	0,60**	0,33*	0,70**	NS	0,80**	0,30 (*)	0,42*	NS	0,80**	0,36 (*)	0,70
Digestibilité T *in vitro*	NS	0,30	0,40*	NS	NS	0,40*	0,30 (*)	0,32 (*)	NS	0,40*	0,51**	0,37 (*)
Glucides PE	NS	0,40*	—	—	NS	0,30	—	—	NS	0,40*	—	—
Glucides T	—	— 0,46*	0,51**	—	—	0,24	0,33*	—	—	0,54**	0,49**	—
Lignine T	NS	— 0,30	— 0,31 (*)	NS	NS	— 0,30	— 0,30 (*)	— 0,25	NS	— 0,40*	— 0,35*	— 0,30 (*)
Résistance broyage T (2)	—	—	NS	NS	—	— 0,70**	NS	— 0,60**	—	—	NS	— 0,60**
Compression axiale T	—	—	NS	— 0,67**	—	—	NS	— 0,30 (*)	—	—	NS	— 0,50**
Diamètre T	—	— 0,41*	0,31	— 0,43*	—	0,50**	0,37*	0,66**	—	0,51**	0,35*	0,52**
Rendement PE	—	—	— 0,60**	0,44*	—	—	NS	0,38*	—	—	NS	0,50**

Signification de la corrélation NS = non significative ; (*) s à 0,10, * s à 0,05, ** s à 0,01.

(1) MS = matière sèche, T = tige, PE = Plante entière, — caractère non observé.

(2) Résistance à l'éclatement.

non-grain et de la proportion de grain (tabl. 8). Cela se traduit par une assez bonne valeur de prévision de la digestibilité reconstituée à partir de la digestibilité de la tige et de celle du grain estimée à 85 p. 100 ($r = 0{,}81^{**}$ en 1972 et $r = 0{,}73^{**}$ en 1973).

TABLEAU 8

Composantes principales de la valeur alimentaire
(Lusignan, S.A.P.F., 1972)

Composantes (1)	Corrélation avec	
	Digestibilité	Digestible ingéré
« Tardiveté »	NS	— 0,51 **
« Qualité non-grain »	0,42 *	0,46 *
« Grain » (%)	0,53 **	NS

* signification à 0,05 ;
** signification à 0,01.
(1) Indépendance entre elles par définition.

b) *Quantité consommée.*

En moyenne, le degré d'explication de la quantité consommée par les facteurs étudiés a été plus faible que celui de la digestibilité. La proportion de grain ne joue pas un rôle privilégié. La digestibilité *in vitro* de la plante entière ou de la tige apparaissent comme les meilleurs caractères de prévision de la quantité consommée, la teneur en cellulose tend à avoir un effet défavorable alors que la teneur en glucides tend à avoir un effet favorable. La teneur en lignine (Van Soest, 1963) tend aussi à avoir un effet défavorable. Les caractères ayant la meilleure valeur de prévision de la qualité consommée semblent être liés à la structure de la tige : sur 3 années (1972, 1973, 1974) les hybrides à grosses tiges et faible résistance au broyage (méthode Chesnot et Grenet, 1971) ont en moyenne été mieux consommés.

c) *Quantité de matière organique digestible ingérée.*

Ce facteur qui est le produit de la quantité consommée par la digestibilité est en liaison assez étroite avec les caractères étudiés (tabl. 7).

Les facteurs favorables sont :

— une assez forte teneur en matière sèche des tiges,
— une faible teneur en cellulose,
— une forte teneur en glucides solubles,
— une faible teneur en lignine,
— une forte digestibilité *in vitro* des tiges ou de la plante entière,
— un fort diamètre des tiges.

La proportion de grains tend à avoir un effet favorable mais assez instable. En 1972, l'analyse des composantes principales de la variabilité et leur utilisation

en régression orthogonale fait apparaître deux « facteurs » indépendants aussi importants l'un que l'autre : l'un lié à la précocité (les hybrides précoces sont mieux consommés), l'autre lié à la qualité de la partie non-grain (tabl. 8).

3. — *Facteurs de la digestibilité* in vitro

L'étude de la digestibilité reconstituée à partir de la digestibilité de la tige et de la proportion de grain montre que ces deux caractères y participent de façon égale. C'est la teneur en cellulose qui explique le mieux la qualité de la partie non-grain. En moyenne, sur l'ensemble des hybrides étudiés, à stade égal, la digestibilité de la tige est assez indépendante de la proportion de grain. Ce résultat peut sembler ne pas confirmer l'hypothèse d'une liaison négative entre qualité de la tige et proportion de grain. Celle-ci existe pour un génotype donné sous l'influence de variations dues au stade de récolte, à la densité de culture, au degré de fécondation. Pour un ensemble de génotypes de même précocité, dans les mêmes conditions, la liaison peut être rompue. Cependant il subsiste bien une tendance à une liaison négative, puisque lorsque la proportion de grain augmente, la teneur en cellulose est plus élevée et la teneur en glucides est moindre (tabl. 9).

TABLEAU 9

Corrélations entre pourcentage de grain et facteurs de la qualité de la tige

Essai	1973. 1	1973. 2	1972
Digestibilité	NS	— 0,28*	NS
Cellulose	NS	0,40**	NS
Azote	NS	NS	NS
Lignine	NS	NS	NS
Glucides	NS	— 0,46**	— 0,33 (*)

4. — *Facteurs du rendement en matière sèche*

Sur cinq années d'essais, il y a eu une indépendance totale entre le rendement et la proportion de grain. Il apparaît clairement qu'il faut un développement maximum de toutes les parties de la plante pour obtenir le rendement le plus élevé. Un même rendement peut se réaliser avec des compositions morphologiques très différentes. L'importance du rôle de la partie non-grain est soulignée par l'influence favorable des dimensions de la tige (hauteur et diamètre). Craig (1966), avec du matériel d'origine très différente était déjà arrivé à cette conclusion.

5. — *Relations entre rendement et qualité* (tabl. 10)

Entre rendement et facteurs de la valeur alimentaire.

En moyenne un fort rendement se traduit par une augmentation de la teneur en cellulose. La digestibilité *in vitro* des tiges apparaît plus indépendante du rende-

ment. La relation rendement-teneur en glucides n'est pas stable et rarement significative.

TABLEAU 10

Corrélations entre rendement et facteurs de la qualité de la tige

Essai (+)	Lignine tige	Digestibilité *in vitro*	Cellulose tige	Azote tige	Glucides tige
L. 1970	NS	NS	NS	NS	NS
L. 1971	—	NS	NS	— 0,49 (*)	0,46 (*)
L. 1972	NS	NS	0,50**	— 0,40*	— 0,40*
L. 1973 (1)	NS	NS	NS	NS	NS
L. 1973 (2)	NS	— 0,32*	0,37*	NS	NS
P. 1970	—	NS	NS	— 0,89**	NS
P. 1971	—	NS	0,65*	— 0,65*	NS

Signification (*) 0,10 (+) L = Lusignan, S. A. P. F.
* 0,05 P = Pau, A. G. P. M.
** 0,01

Entre rendement et teneur en protéines.

La relation rendement-teneur en protéines est assez fréquemment négative.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Influence de la proportion de grain

L'étude d'hybrides expérimentaux « normaux » de même précocité montre, comme différentes observations permettaient de le supposer, que la proportion de grain n'est pas suffisante pour expliquer les variations de qualité : il faut aussi tenir compte de la qualité de la partie non-grain.

Cette constatation semble se vérifier au niveau des performances zootechniques. Des observations réalisées sur taurillons à la Station d'Amélioration des Plantes fourragères à Lusignan (tabl. 11) montrent des croissances journalières assez indépendantes de la proportion de grains lorsque celle-ci variait de 40 à 50 p. 100. Ces résultats pourraient s'expliquer par des différences dues à la partie non-grain. Ainsi, dans l'expérience n° 1, *IOWA 4417*, avec 39 p. 100 de grain a entraîné la meilleure performance (5,6 p. 100 de plus que *INRA 400*, avec 11 p. 100 de grains en moins, 22 p. 100 en valeur relative). Des résultats obtenus par DEMARQUILLY (1973) tendent même à montrer sur taurillons une relation négative entre quantité consommée et proportion de grains ; mais celle-ci étant liée à une forte teneur en cellulose et à une forte teneur en matière sèche il est difficile de conclure.

TABLEAU II

Croissance des taurillons Charolais × Normand *ou* Charolais × Salers *et proportion de grain dans l'ensilage*

Résultats Station de Lusignan (1972-1973-1974).
Animaux en phase d'engraissement

Expérience	Variété	MS (%)	Grain (%)	Gain/jour (g)
1	*INRA 400*	33	50	1 376
	IOWA 4417	30	39	1 454
2	*IOWA 4417*	32	43	1 339
	*HS Nain (Br 2)**	28	41,3	1 390
3	*FUNK'S 245*	32	44	1 408
	FUNK'S 245	40	51	1 362
	LG 11	36	40	1 404
	LG 11	45	44	1 468

* Hybride simple brachytic-2 (nain) à tige de bonne digestibilité (tabl. 5).

Différents chercheurs ont déjà montré que la variation de la proportion de grain n'avait pas de forte influence sur les performances zootechniques (Cummins, 1969 ; Freyman, 1973 ; Hemken, 1971 ; Owen, 1967). Enfin, les observations de Colenbrander (1972), montrant que le caractère « brown midrib » est susceptible d'augmenter le taux de croissance de plus de 10 p. 100, sont bien une preuve de l'importance de la qualité de la tige au niveau de performances zootechniques. Mais il serait sans doute dangereux de conclure de l'ensemble de ces résultats que des maïs sans grain peuvent entraîner des performances identiques aux maïs avec grain (1).

En ce qui concerne le rendement, la proportion de grain n'a aucune influence dans un intervalle de variation assez grand. Toutefois il semble qu'il faille un minimum de grain, car les formes mâles-stériles étudiées ont toujours eu, dans nos conditions, un rendement inférieur aux formes fertiles. De plus il est apparu une relation positive entre rendement et pourcentage de plantes fécondées (mais sans relation entre le rendement et la proportion de grains).

Une certaine proportion de grain sera aussi nécessaire pour arriver assez facilement et régulièrement à une teneur en matière sèche de la plante entière d'environ 30 p. 100.

Signification de la qualité

Il apparaît après étude de la digestibilité *in vivo* et de la quantité de matière organique digestible ingérée qu'il n'y a pas un facteur prépondérant de la qualité, mais

(1) En 1975, une expérimentation réalisée à la Station de Lusignan, avec des maïs ayant souffert de la sécheresse, semble montrer qu'un hybride avec une faible proportion de grain (10 p. 100) a été aussi bien consommé par des moutons qu'un hybride à plus forte proportion de grain (30 p. 100), avec une digestibilité à peine inférieure (1 à 3 p. 100 en valeur relative).

plusieurs facteurs, plus ou moins liés entre eux, mais chacun pouvant être toutefois un des facteurs limitants de la qualité selon le matériel végétal, ce qui peut expliquer les conclusions apparemment différentes de certaines études. Le sélectionneur devra donc travailler sur plusieurs caractères à la fois. Parmi ces caractères, la digestibilité *in vitro* de la tige ou de la plante entière, et les caractères liés à la fibrosité de la tige semblent jouer un rôle privilégié.

Possibilités de sélection

L'étude de la variabilité et des relations entre caractères montre qu'il est possible de progresser en ce qui concerne les caractères de valeur alimentaire (digestibilité, quantité consommée) à rendement égal, et pour le rendement à qualité égale. Ces conclusions rejoignent celles de ROTH (1970) et de BUNTING (1973). Il semble même possible de progresser à la fois sur le rendement et la valeur alimentaire. Nos premiers résultats montrent qu'une bonne qualité de la tige peut être compatible avec une assez bonne résistance à la verse qu'il faudra toujours conserver. (Il est déjà connu qu'une teneur élevée en glucides dans les tiges entraîne une meilleure résistance à la verse parasitaire). Par contre il apparaît qu'il sera difficile d'améliorer la teneur en protéines à rendement égal ou le rendement à teneur en protéines égale. Pour lever cette difficulté, il faudra peut-être faire appel à d'autres types morpho-physiologiques (prolificité en épis, tallage).

En conclusion, les objectifs de sélection qui semblent d'ores et déjà pouvoir être retenus sont : le rendement total en matière sèche, la valeur alimentaire et la précocité d'ensilage. Dans une première étape, des variétés à vocation mixte, fourrage et grain pourront être créées ; l'introduction du caractère « brown midrib » chez les meilleurs hybrides actuels peut être une voie pour cet objectif. Mais, les progrès les plus importants viendront de la création de variétés spécialisées à vocation surtout fourragère.

Reçu pour publication en octobre 1975.

REMERCIEMENTS

Nous remercions l'Association générale des Producteurs de Maïs pour avoir bien voulu réaliser des essais avec des hybrides tardifs au Lycée agricole de Pau-Montardon (Pyrénées atlantiques). Nous sommes aussi reconnaissants à l'Institut technique des Céréales et des Fourrages pour son aide dans la réalisation d'analyses chimiques, et à la Station de Biométrie du C.N.R.F. (Nancy) pour les interprétations statistiques des données.

SUMMARY

POSSIBILITIES FOR BREEDING MAIZE AS A FORAGE PLANT

Different results already known show that changes in the grain proportion due to the effects of year, density, harvest stage, are not reflected in correlated changes in feed value (digestibility, intake). Grain-less maize plants (male-sterile) are of very good quality. It seems necessary to consider the quality of the non-grain portion of plant.

The study of genetic variability of feed value shows for a given stage (about 30 p. 100 dry matter of the whole plant) considerable variation in intake, and less but significant variation in digestibility. For total dry matter yield a large amount of variation was observed. Statistical analysis of variability in *in vivo* quality in terms of different criteria (*in vitro* digestibility, cellulose, lignin, carbohydrate and nitrogen content, dry matter content, percent grain) shows that to explain variations in digestibility the quality of the non-grain portion must be considered along with the percent grain. Variation in intake, more difficult to explain, depends above all on stem quality (cellulose, lignin, carbohydrate content, resistance to grinding). The value of the brown-midrib character has been confirmed.

Study of factors of dry matter yield show that to obtain the maximum, all parts of the plant must be developed ; grain percent does not play any predominant role. It seems possible to combine progress in yield with improvement in feed value.

In conclusion, considerable progress is expected from the creation of cultivars conceived more for forage production than are current varieties.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANDRIEU J., 1970. Valeur alimentaire du maïs fourrage, in « *Le Maïs, plante fourragère* ». Éditeur AGPM-ITCF, Paris.

ANDRIEU J., DEMARQUILLY C., 1974. Valeur alimentaire du maïs fourrage. *Ann. Zootech.*, **23**, II, 1-25 et III, 27-43.

BARNES R. F., MULLER L. D., BAUMAN L. F. COLENBRANDER V. F., 1971. *In vitro* dry matter disappearance of brown midrib mutants of maize. *J. Anim. Sci.*, **33**, 881.

BLOC D., 1971. La production du maïs fourrage. *Bull. techn. Inform.*, 264-265, 993-1000.

BUNTING E. S., GUNN R. E., 1973. Maize in Britain, a survey of research and breeding. *Ann. Rep. Plant Breed. Inst.* Cambridge, Part IV, p. 32-74.

CHESNOT M., GRENET E., 1971. L'indice de fibrosité des fourrages : sa signification et son utilisation pour la prévision de la valeur alimentaire des fourrages. *Ann. Zootech.*, **20**, 427-436.

COLENBRANDER V. F., LECHTENBERG V. F., BAUMAN L. F., MULLER L. D., RHYKERD C. L., 1972. Nutritive value of brown midrib corn silage. *J. Anim. Sci.*, **35** (5), 1113 (Abstr.).

CRAIG W. F., 1966. Prediction factors for corn silage production. *Diss. Abstr.* 1967, **27**, 2988 B.

CUMMINS D. G., MCCULLOUGH M. E., 1969. A comparison of yield and quality of corn and sorghum silage. *Res. Bull. Univ. Georgia, College Agric., Exp. St.*, **67**, 19 p.

CUMMINS D. G., MCCULLOUGH M. E., 1971. Comparisons of male sterile and male fertile corn for silage. *Agron. J.*, **63**, 46-47.

DEMARQUILLY C., 1969. Valeur alimentaire du maïs fourrage. I. Composition chimique et digestibilité du maïs sur pied. *Ann. Zootech.*, **18**, 17-32.

DEMARQUILLY C., 1973. (Données non publiées).

EL-SHALZY K., DEHORITY B. A., JOHNSON R. R., 1961. Effect of starch on the digestion of cellulose *in vitro* and *in vivo* by rumen micro-organisms. *J. Anim. Sci.*, **20**, 268-273.

FREYMAN S., KALDY M. S., BOWDEN D. M., WILSON D. B., 1973. Nutritive potential of multitillering corn compared with nontillering corn for silage. *Can. J. Plant Sci.*, **53**, 129-130.

HEMKEN R. W., CLARK N. A., GOERING H. K., VANDERSALL J. H., 1971. Nutritive value of corn silage as influenced by grain content. *Dairy Sci.*, **54**, 383-389.

LILA M., 1976. Technique de mesure de la digestibilité *in vitro* en grande série en vue de la sélection pour la qualité des plantes fourragères. *Ann. Amelior. Plantes*, (à paraître).

MARTEN G. C., WESTERBERG P. M., 1972. Maize fodder, influence of barrenness on yield and quality *Crop Sci.*, **12**, 367-369.

OWEN F. G., 1967. Factors affecting nutritive value of corn and sorghum silage. *J. Dairy Sci.*, **50**, 404-416.

ROTH L. S., MARTEN G. C., COMPTON W. A., STUTHMAN D. D., 1970. Genetic variation of quality traits in maize forage. *Crop Sci.*, **10**, 365-367.

SCHMID A. R., MARTEN G. C., ROTH L. S., 1969. Effect of N supplementation on *in vitro* digestibility of corn sorghum and alfalfa. *Agron. J.*, **61**, 20-21.

THOMSON A. J., ROGERS H. H., 1968. Yield and quality components in maize grown for silage. *J. agric. Sci. Camb.*, **71**, 393-403.

TOMASSONE R., 1968. Une méthode d'investigation, la régression orthogonale. *Ann. Sci. forest.*, **24**, 233-258.

VAN SOEST P. J., 1963. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. *J. Ass. off. agric. Chem.*, **46**, 829-835.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (4), 607-622.

HÉTÉROSIS MITOCHONDRIAL

I. — Résultats préliminaires chez un hybride simple de maïs

A. BERVILLÉ, Aïda LABIB, H. THIELLEMENT et B. KOUAME

Université de Paris-Sud,
Laboratoire d'Amélioration des Plantes, Bât. 360,
91405 Orsay

RÉSUMÉ

Une approche de l'hétérosis par le métabolisme mitochondrial oxydatif a été tentée sur un hybride simple de maïs et ses deux lignées parentales. Les paramètres mitochondriaux ont été étudiés par une technique polarographique de mesure de l'oxygène. L'évolution durant les premiers jours de la mise en germination à l'obscurité a été suivie en particulier par le QO 2 à l'état 3 et la phosphorylation oxydative. Le meilleur stade d'étude a pu être déterminé, il est borné par la fin des effets maternels et l'épuisement des réserves de l'hybride. Dans cet intervalle l'hybride manifeste une supériorité énergétique due vraisemblablement à la vigueur germinative et à l'hétérosis sans que l'on puisse faire la part de l'un ou l'autre.

INTRODUCTION

La prédiction, de l'hétérosis serait un progrès certain en Amélioration des Plantes. La complémentation mitochondriale réalisée *in vitro* selon MacDaniel et Sarkissian (1966) pourrait être un moyen de prédire la valeur d'un croisement. Ceci suppose que l'hybride sexuel réalisé entre deux lignées parentales exprime un hétérosis pour les paramètres mitochondriaux. Un hybride, qui possède la demi-somme des informations génétiques parentales, peut présenter une meilleure efficacité des réactions métaboliques, anaboliques ou cataboliques dont les processus réactionnels sont régis par les informations nucléaires, cytoplasmiques et leurs interrelations. Nous avons choisi d'étudier un aspect du métabolisme énergétique en supposant que les structures codées par les informations nucléaires et mitochondriales sont plus complexes chez l'hybride hétérozygote que chez les lignées parentales homozygotes.

Bien que de nombreux résultats soient publiés sur l'hétérosis mitochondrial du Maïs, Sarkissian et MacDaniel, 1966 ; Hageman *et al.*, 1967 ; MacDaniel et Sarkissian, 1968 ; Van Gelder et Mediema, 1975, il nous a paru intéressant de

réaliser une étude depuis la germination jusqu'à l'épuisement des réserves du grain pour rendre compte de l'évolution des paramètres étudiés.

Une étude préliminaire de quelques paramètres énergétiques mitochondriaux susceptibles de concrétiser notre modèle, en fonction de l'âge des germes ou de critères physiologiques, nous a paru indispensable pour déterminer le meilleur stade de prélèvement du matériel correspondant à un maximum de vigueur hybride.

ABRÉVIATIONS

ADP : adénosine 5'-diphosphate

ADP/O : $\frac{\text{nombre de molécules d'ADP phosphorylé}}{\text{nombre d'atomes d'oxygène consommé}}$

ATP : adénosine 5'-triphosphate

BSA : bovine serum albumin

EGTA : ethylene-glycol-*bis* (β-aminethyl ether)-N, N'-tetraacetic acid

TES : (N-*tris* (hydroxymethyl) methyl-2-amicoethane sulfonic acid)

TRIS : (hydroxymethyl) aminomethane

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. — *Matériel végétal*

Nous avons choisi un hybride simple, commercial « INRA 508 » et ses deux lignées parentales : W 64 A parent femelle et F 546 parent mâle. L'hybride réciproque n'était pas disponible.

2. — *Germination*

Vingt-cinq grammes de semences traitées avec un fongicide (dénomination commerciale : captane + anthraquinone) sont lavées puis stérilisées par trempage 10 minutes dans l'hypochlorite de sodium du commerce dilué de moitié. Après plusieurs rinçages à l'eau bidistillée stérile, les graines sont mises à germer sur cinq couches de papier à filtrer stérile (format 0,26 × 0,45 m).

Ce papier est imbibé par 200 ml d'une solution de $CaCl_2$ 10^{-4} M puis enfermé dans un bac en matière plastique noire de même dimension fermé hermétiquement. Le couvercle est :

— soit noir lorsque les bacs sont mis à germer à l'obscurité à 24°C dans une étuve,

— soit transparent et les bacs sont alors disposés dans une étuve où l'on peut contrôler un éclairement de 8 000 lux sous une photopériode de 16 heures et une température uniforme de 24°C.

Les germes sont prélevés depuis 21 heures de séjour à l'étuve jusqu'à 165 heures. Si nécessaire le papier est réhumecté par de l'eau déionisée. L'homogénéité des étuves, testées par un dispositif d'essai en blocs, s'est révélée très convenable pour la suite des expériences.

3. — *Isolement des mitochondries*

Toutes les opérations de préparations sont conduites à 2°C. La mesure de l'activité des mitochondries est déterminée à 27°C.

a) *Les milieux.*

Le milieu de broyage contient : saccharose 0,4 M, KH 2 PO 4 50 mM, TRIS 50 mM, EGTA 5 mM, ajusté à pH 7,6 avec TRIS M, BSA fraction V 0,75 mg/ml d'après YAKOVLEV et coll (1971).

Le milieu de suspension du culot de mitochondries (milieu culot) contient : saccharose 0,2 M, TES 10 mM ajusté à pH 7,2 avec KOH 0,1 M, BSA fraction V 0,75 mg/ml d'après YAKOVLEV et coll. (1971).

Le milieu de réaction des mitochondries (milieu électrode) contient : mannitol 0,3 M, KCl 10 mM $MgCl_2$ 5 mM. TRIS HCl pH 7,2 10 mM, KH_2PO_4 ajusté à pH 7,2 avec KOH, 10 mM ; BSA fraction V 0,75 mg/ml ; d'après SARKISSIAN (1972).

b) *Le broyage.*

Le germe plus le scutellum, ou total 3 g, sont broyés dans un mortier en présence de sable de Fontainebleau (3 à 4 g) dans 5 ml de milieu de broyage. Après 10 secondes de broyage on ajoute progressivement 25 ml de milieu broyage. La manipulation dure une minute.

c) *Les centrifugations.*

Le broyat est filtré à travers 4 épaisseurs de toile de nylon de maille 48 microns puis centrifugé une première fois 9 100 T/mn pendant 15 secondes, une fois cette vitesse atteinte par le rotor SS 34 (Sorvall RC 2 B). Le surnageant est centrifugé de nouveau pendant 2 minutes à 17 000 T/mn, d'après SARKISSIAN, 1972).

d) *Remise en suspension des mitochondries.*

Le culot obtenu contenant les mitochondries est remis en suspension dans 1 ml de milieu culot ce qui permet deux déterminations d'activité. L'ensemble des opérations est réalisé en 20-24 minutes, 10-12 minutes pour l'extraction, 10-12 minutes pour la détermination de l'activité.

4. — *Les réactifs*

a) *L'ADP (Adenosine diphosphate) :*

Une solution mère d'ADP (75 mM) est stockée à — 30°C, par aliquots de 0,3 ml. La solution est renouvelée mensuellement, un aliquot est dosé immédiatement après la préparation et un autre l'est à la fin du mois. On vérifie par la technique de JAWOREK *et al.* (1974) que la dégradation est inférieure à 3 p. 100.

Il est ajouté pour être à une concentration finale de 300 µ M dans la réaction.

b) *Substrats.*

L'acide α cétoglutarique (KGA) est neutralisé par KOH 2 N, amené à pH 7,2 ajouté pour être à une concentration finale de 10 mM dans la réaction.

5. — *Mesure de l'activité*

Nous utilisons une technique polarographique de mesure de l'oxygène avec une électrode de type Clark. Un circuit thermostaté maintient la cellule de réaction à 27°C.

0,5 ml de la suspension mitochondriale est ajouté à 2,5 ml de milieu électrode. Lorsque l'équilibre thermique est atteint et l'enregistrement observé pendant une minute (état 1), le substrat est ajouté et la réaction observée pendant une minute (état 2), puis 3 cycles successifs (état 3 et 4) de phosphorylation sont réalisés par addition de 300 µ Moles d'ADP. On peut calculer ainsi :

Le rapport $\frac{ADP}{O}$: nombre de molécules d'ADP phosphorylé pour un atome d'oxygène consommé ;

le Contrôle respiratoire (CR) : rapport de l'oxygène consommé à l'état 3 et à l'état 4.

L'interprétation des enregistrements est faite selon CHANCE et WILLIAMS (1955 *a*, 1956) et ESTABROOK (1967).

A 27°C nous avons pris 240 µmol/l comme concentration d'oxygène dissous en saturation.

6. — *Détermination des protéines*

A la fin de l'essai nous prélevons dans la cellule de mesure 0,1 ml de la suspension réactante qui est diluée 10 fois et stockée à — 30°C. La quantité de protéines est déterminée avec le réactif de Folin selon la méthode de LOWRY *et al.* (1951), par rapport à une gamme étalon établie à partir de BSA fraction V.

Nous considérons que la BSA introduite dans les milieux n'occasionne qu'une erreur systématique dont nous ne tenons pas compte dans les calculs.

RÉSULTATS

1. — *Développement et croissance des germes*

La longueur des mêmes pousses est déterminée toutes les 24 heures entre 21 et 165 heures de germination, les graines normalement développées étant seules prises en considération.

La longueur des parties aériennes en fonction du temps est portée sur la figure 1 (à l'obscurité) et figure 2 (à la lumière).

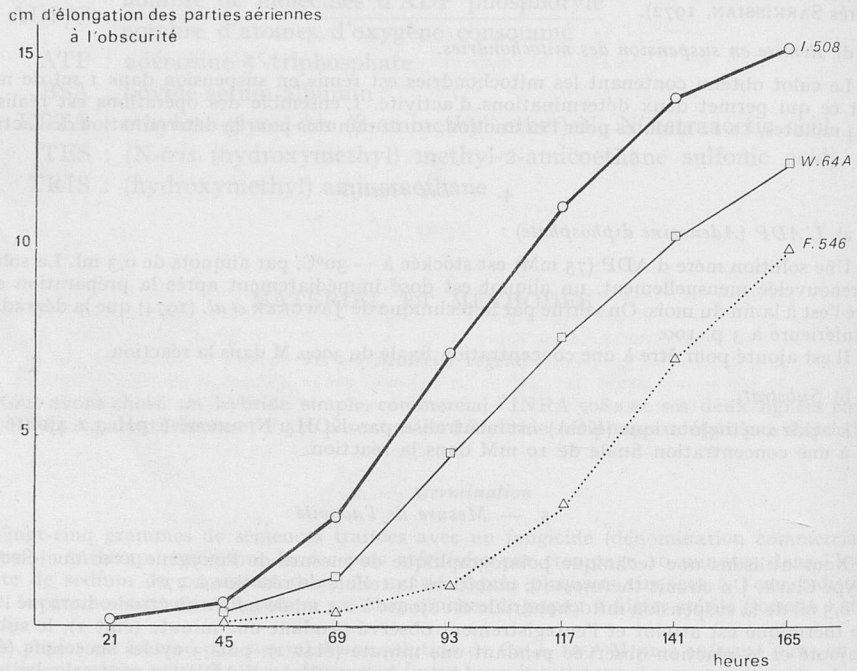


FIG. 1. — *Élongation des parties aériennes d'un hybride F_1 de Maïs et de ses parents en fonction du temps à 24°C à l'obscurité*

Nous constatons que l'hybride est en avance sur le parent femelle, le parent mâle vient en dernier à l'obscurité comme à la lumière.

La différence de précocité des deux lignées introduit donc une variable supplémentaire dans l'analyse de l'hétérosis. Il sera possible d'évaluer approximativement les effets de la précocité en comparant les activités de germes de longueurs égales.

La longueur totale est beaucoup plus grande pour les 3 génotypes à l'obscurité qu'à la lumière mais l'effet de l'étiolement se porte essentiellement sur le mésocotyle dont la longueur peut dépasser 10 cm alors qu'en conditions normales il ne dépasse guère 1 à 2 cm.

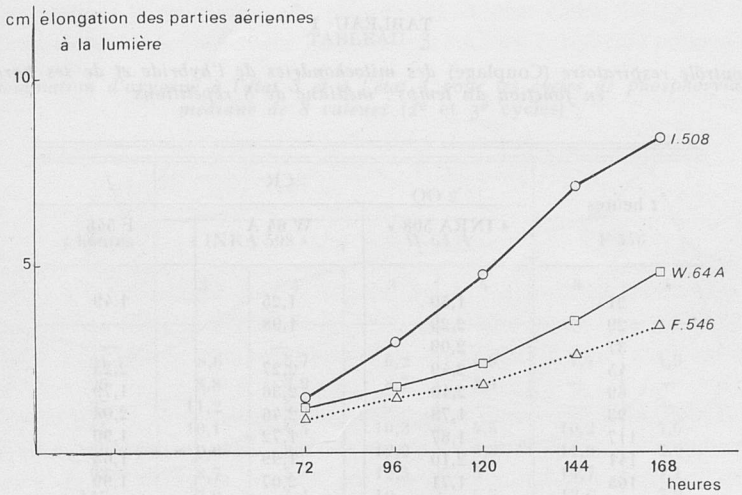


FIG. 2. — *Élongation des parties aériennes d'un hybride F_1 de Maïs et de ses parents en fonction du temps à 24°C à la lumière*

2. — *Étude des paramètres respiratoires*

Les mitochondries ont été extraites dans 4 expériences indépendantes correspondant à 4 traces.

Sur chaque trace 3 à 4 cycles de phosphorylation sont représentés. Les paramètres étudiés : le Contrôle respiratoire (tabl. 1) ; l'ADP/O (tabl. 2) ; le QO 2 à l'état 3, le QO 2 à l'état 4 (tabl. 3) ne sont pas des variables normales car ce sont des rapports. On doit donc faire appel à un test non paramétrique : le test de KOLMOGOROV SMIRNOV pour analyser les résultats. Néanmoins pour l'ADP/O on peut faire une exception. En effet en étudiant le rapport O/ADP, qui est une variable normale, nous avons montré que les cycles successifs de phosphorylation n'étaient pas différents, que l'effet génotype était significatif, l'hybride, le parent femelle, le parent mâle se classent dans cet ordre à 21, 45, 69, 93, 117, 141 et 165 heures.

Pour les QO 2 nous ne nous intéressons qu'à la forme des courbes sans entrer dans le détail des calculs. Les représentations graphiques sont respectivement données dans la figure 4 (état 3 et 4) et figure 5 (état 3 et 1) et figure 3 pour l'ADP/O.

A. *Contrôle respiratoire.*

Nous constatons que le Contrôle respiratoire (tabl. 1) n'évolue ni en rapport avec l'ADP/O (tabl. 2) ni avec l'âge des germes. Sa valeur est analogue à celles obtenues pour des mitochondries végétales avec du KGA, LANCE (1971).

B. *Le rapport ADP/O.*

L'évolution des valeurs de l'ADP/O (fig. 3) est analogue pour les trois génotypes mais les efficacités de phosphorylation sont significativement différentes, l'hybride est en général supérieur aux deux parents. Trois phases d'évolution de l'ADP/O se distinguent nettement. Ceci est dû à la présence du scutellum prélevé

TABLEAU 1

Contrôle respiratoire (Couplage) *des mitochondries de l'hybride et de ses parents en fonction du temps : médiane de 8 répétitions*

t heures	CR		
	« INRA 508 »	W 64 A	F 546
21	1,50	1,25	1,49
29	2,29	1,98	—
37	2,09	—	—
45	2,49	2,27	2,25
69	2,40	2,36	1,79
93	1,78	2,46	2,08
117	1,87	1,72	1,90
141	2,10	1,99	1,63
165	1,71	2,07	1,99

TABLEAU 2

Phosphorylation oxydative (ADP/O) *des mitochondries de l'hybride et de ses parents : médiane de 8 répétitions*

t heures	ADP/O		
	« INRA 508 »	W 64 A	F 546
21	1,8	1,1	0,8
29	2,2	1,8	—
37	2,7	—	—
45	2,4	2,2	1,5
69	2,1	1,8	1,6
93	2,3	1,7	1,0
117	2,3	2,2	1,3
141	2,8	2,4	1,7
165	2,3	2,9	2,1

avec le germe. Les parties aériennes étiolées seules sont de plus en plus couplées avec l'âge. (Résultats non publiés).

C. *Les QO 2.*

Le QO 2 ou intensité de consommation d'oxygène exprimée en micro-atomes d'oxygène par minute par mg de protéines à l'état 1 (fig. 5) représente la consommation d'oxygène endogène en l'absence de substrat. F 546 présente une intensité supérieure aux deux autres génotypes.

Le QO 2 à l'état 3 (fig. 4 et fig. 5) exprime les potentialités des mitochondries car aucun facteur n'est limitant. L'hybride montre un maximum précoce alors

TABLEAU 3

Consommation d'oxygène à l'état 3 et à l'état 4 pour les cycles de phosphorylation : médiane de 8 valeurs (2e et 3e cycles)

t heures	QO 2					
	« INRA 508 »		W 64 A		F 546	
	3	4	3	4	3	4
21	8,6	5,7	6,2	4,9	7,4	4,9
29	8,8	3,9	8,7	4,4	—	—
37	11,2	5,4	—	—	—	—
45	10,1	4,4	10,3	4,5	10,2	4,6
69	9,0	3,8	12,2	5,3	11,9	6,2
93	8,7	5	12,5	5	14,7	7,1
117	7,9	4,1	10	5,7	13,6	7,3
141	6,0	2,9	9,7	4,9	10,2	6,3
165	6,6	3,9	8,3	4,3	8,4	3,8

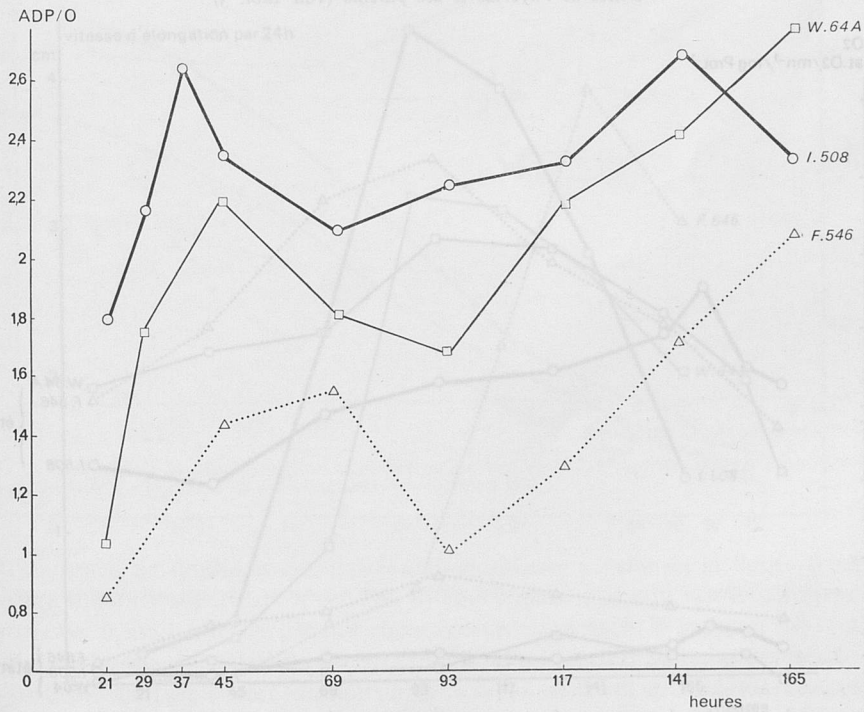


FIG. 3. — *Efficience de la phosphorylation oxydative en fonction du temps pour l'hybride et ses parents*

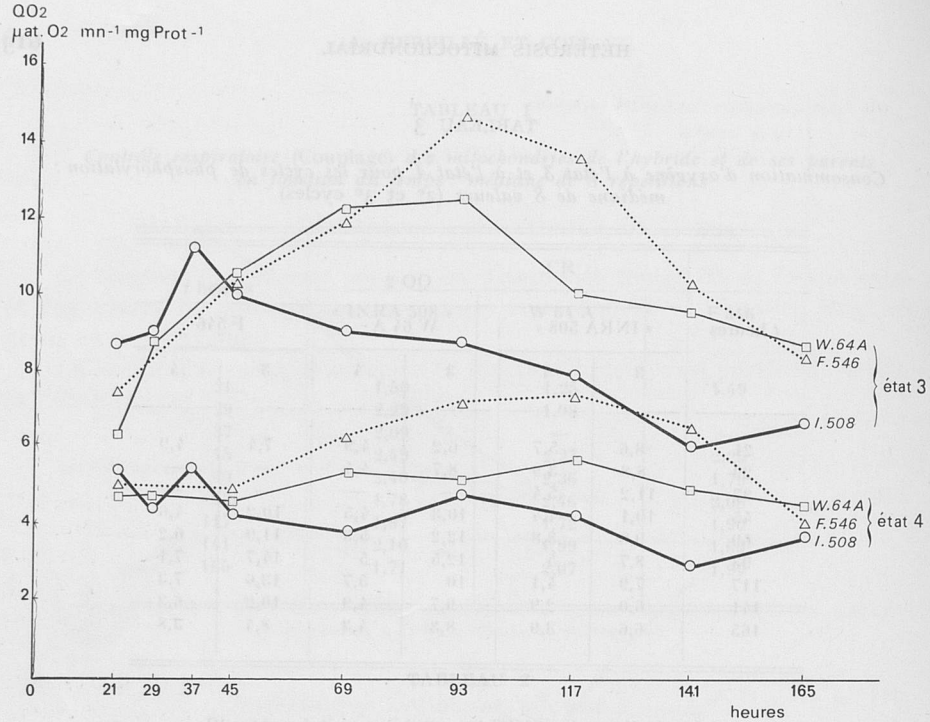


FIG. 4. — *Consommation d'oxygène des mitochondries à l'état 3 puis à l'état 4, isolées de l'hybride et des parents* (voir tabl. 3)

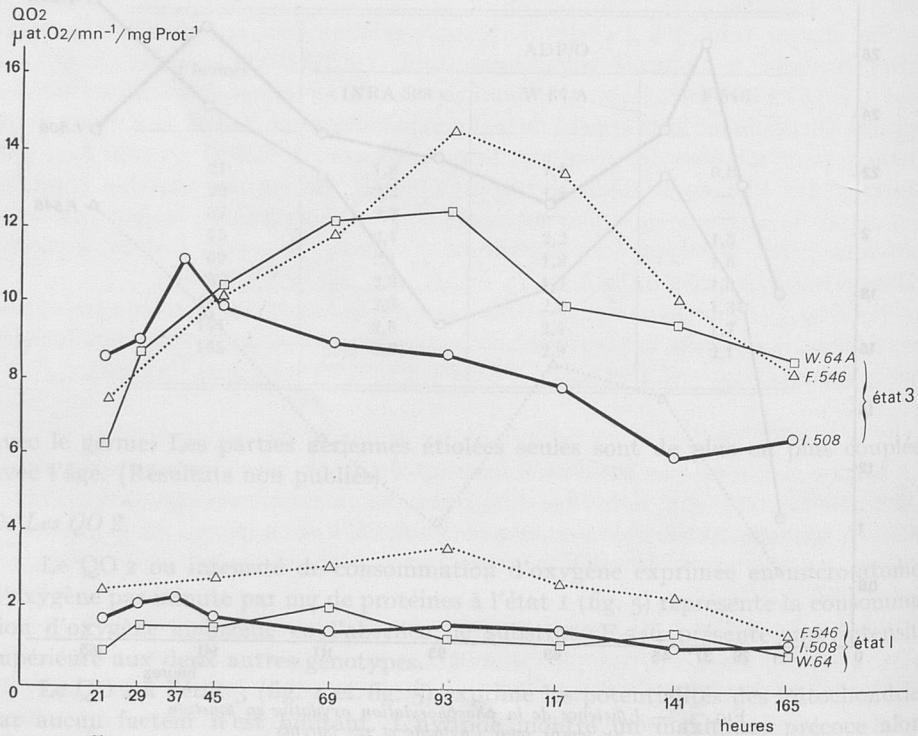


FIG. 5. — *Consommation d'oxygène des mitochondries à l'état 1 puis à l'état 3, isolées de l'hybride et de ses parents*

que pour les lignées le maximum est plus tardif et plus élevé. Le QO 2 à l'état 4 (fig. 4) est moins variable (le facteur limitant est l'ADP). L'hybride présente l'intensité la plus basse.

INTERPRÉTATION, DISCUSSION

1. — *La germination*

L'hybride a la croissance la plus rapide (fig. 6) : 41 mm/24 h entre 69 et 117 h alors que le parent femelle n'atteint à peine au même stade que 32 mm/24 h. Le parent mâle a une vitesse comparable à celle de l'hybride mais avec un retard de 48 h : 39 mm/24 h.

En culture par la suite, cette lignée se montre plus vigoureuse, elle rattrape et dépasse W 64 A environ un mois après le semis mais elle est moins productive.

L'avance de l'hybride se traduit par un épuisement des réserves qui se fait sentir au point d'infléchissement de la courbe de croissance (fig. 6), à environ 117 h, alors que les lignées conservent le même rythme de croissance (encore au moins 24 h pour W 64 A).

La consommation des mitochondries à l'état 3 (fig. 4 et fig. 5) croît très vite avec le temps mais après 37 h de germination, elle décroît lentement pour l'hybride,

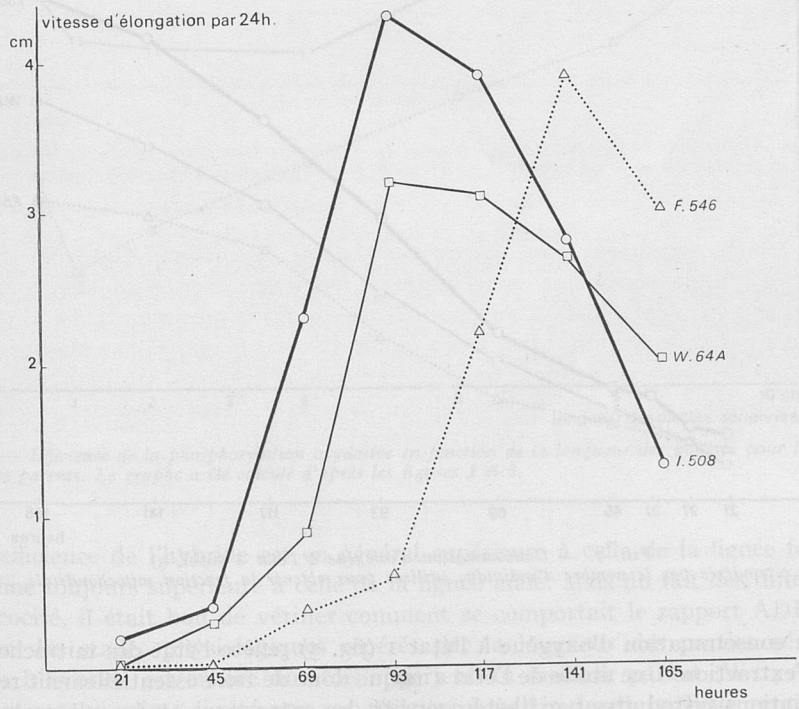


FIG. 6. — *Vitesse moyenne d'élongation calculée sur 24 h pour l'hybride et ses parents*

L'analyse de la croissance de l'hybride et de ses parents montre une avance pour l'hybride qui s'accentue sans cesse par la différence des vitesses de croissance. Mais à ce niveau deux mécanismes interfèrent : la vigueur germinative ou précocité des phénomènes et la vigueur hybride. Nous mesurons par nos paramètres le bilan des deux effets sans pouvoir faire la part de l'un ou l'autre.

2. — *QO 2 des mitochondries*

La consommation des mitochondries à l'état 3 (fig. 4 et fig. 5) croît très vite avec le temps mais après 37 h de germination, elle décroît lentement pour l'hybride, alors que les lignées n'atteignent leur maximum, très supérieur à celui de l'hybride, qu'à 93 heures. Si l'on pondère le QO 2 à l'état 3 par le nombre de grains testés (fig. 7), l'individu hybride consomme plus d'oxygène. Nous nous trouvons devant des faits qui semblent paradoxaux : l'hybride consomme moins d'oxygène par unité de poids mais il en consomme plus par individu car il est plus lourd. Comme apparemment l'hybride synthétise plus de matériel durant les premiers stades puisqu'il accentue son avance on peut logiquement supposer qu'il a un meilleur rendement d'utilisation de l'oxygène.

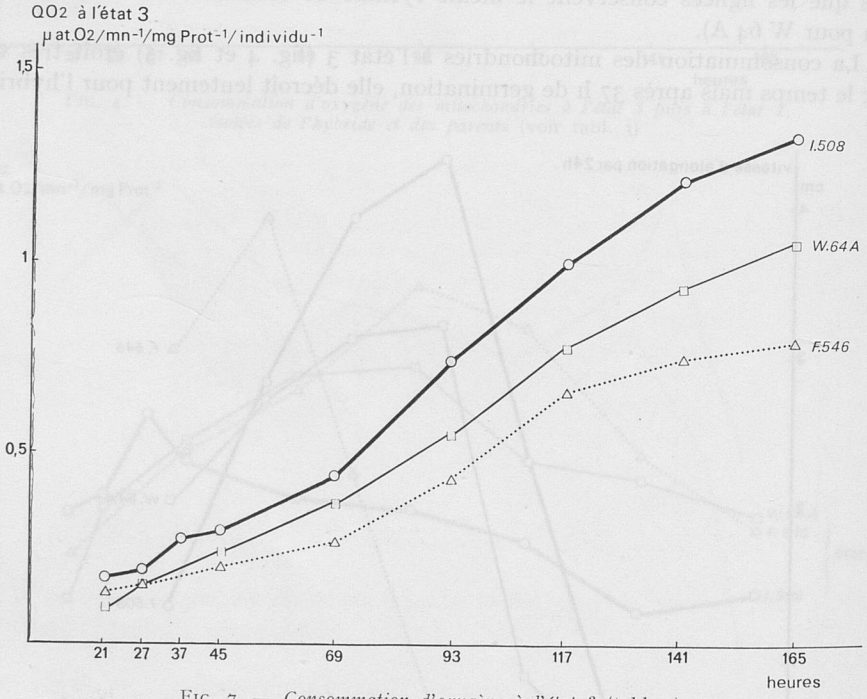


FIG. 7. — *Consommation d'oxygène à l'état 3* (tabl. 3)
pondérée par le nombre d'individus utilisés pour obtenir la fraction mitochondriale

La consommation d'oxygène à l'état 1 (fig. 5) reflète l'état des mitrochondries après l'extraction. Une étude de l'état 1 risque donc de faire essentiellement ressortir les variations introduites par l'hétérogénéité des extractions et des substrats endogènes.

3. — *Observations sur la phosphorylation*

Le maximum d'efficacité de la phosphorylation oxydative ADP/O (fig. 3), qui délimite les deux premières phases, est sensiblement au même stade pour les trois génotypes.

Comment expliquer cette variation de l'ADP/O ? On remarque que les lipides des réserves ne se retrouvent plus dans le premier surnageant des centrifugations dès que la partie aérienne mesure 1 à 2 cm.

Il est vraisemblable qu'à partir de ce stade le métabolisme des glucides prend la relève de façon concomitante à une réorganisation des systèmes enzymatiques, Roos et Sarkissian (1968). On peut concevoir, à ce stade, la mise en place d'une nouvelle structure de l'enzyme ou de la membrane rendant compte des observations.

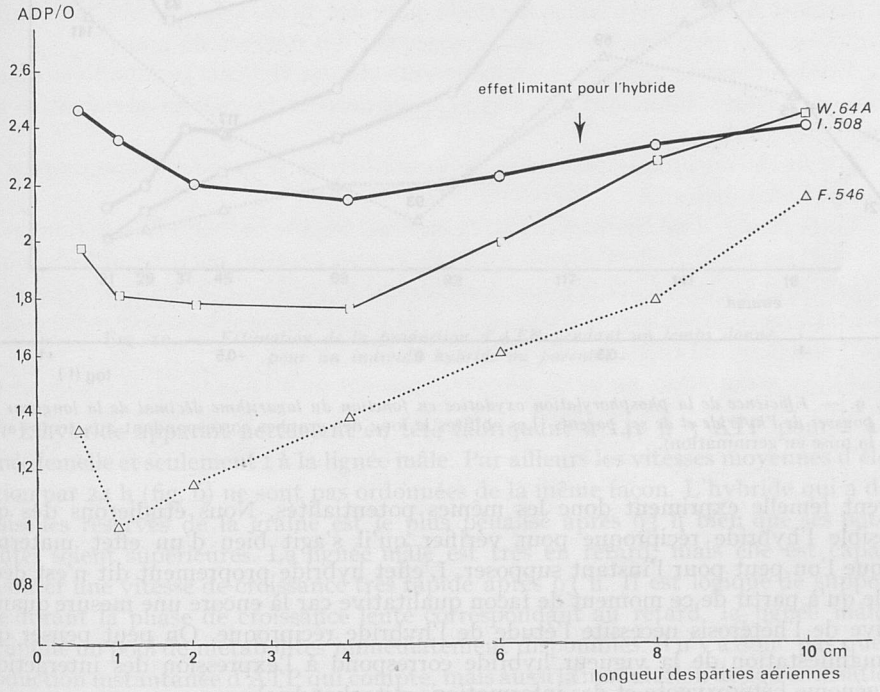


Fig. 8. — *Efficience de la phosphorylation oxydative en fonction de la longueur des pousses pour l'hybride et ses parents. Le graphe a été calculé d'après les figures 1 et 3.*

L'efficience de l'hybride est en général supérieure à celle de la lignée femelle, elle-même toujours supérieure à celle de la lignée mâle. Mais du fait des différences de précocité, il était bon de vérifier comment se comportait le rapport ADP/O en fonction des stades physiologiques repérés par la longueur des parties aériennes (fig. 8). L'hybride est encore une fois supérieur au meilleur parent (W 64 A) sauf quand il est lui-même limité par ses réserves à partir de 93 h. Pour représenter graphiquement l'ADP/O en fonction de la longueur des germes de 0 à 10 cm, nous

avons choisi une représentation semi-logarithmique (voir fig. 9). Les courbes de « INRA 508 » et de W 64 A sont confondues jusqu'à un stade qui correspond à 45 h pour le parent femelle et 29 h pour l'hybride. Les mitochondries de l'hybride et du

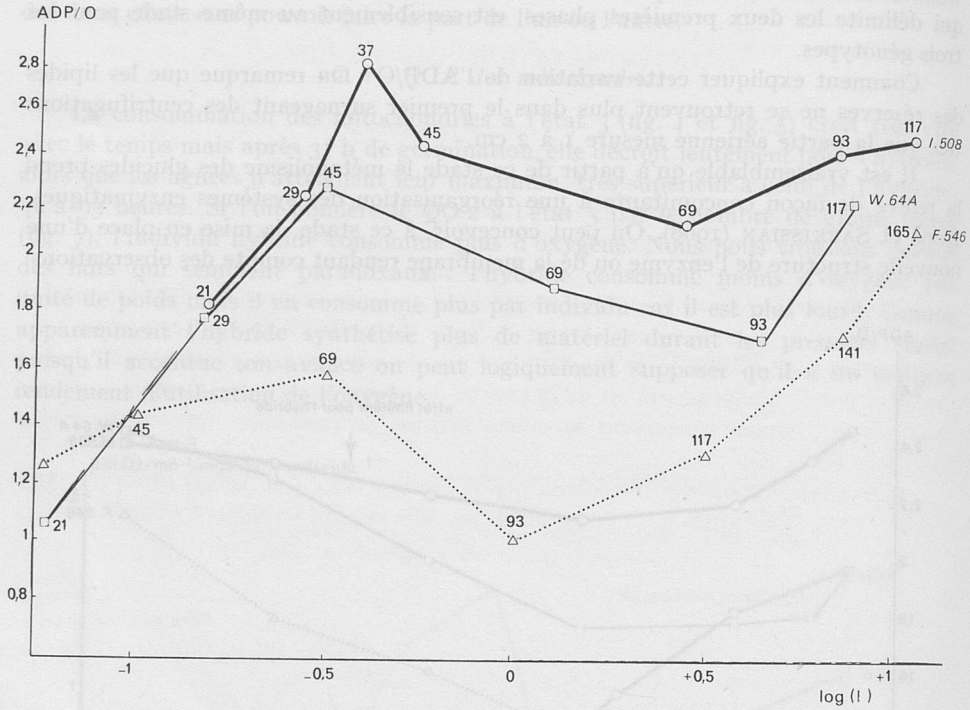


FIG. 9. — *Efficience de la phosphorylation oxydative en fonction du logarithme décimal de la longueur des pousses de l'hybride et de ses parents* (Les chiffres le long des graphes correspondant aux temps après la mise en germination).

parent femelle expriment donc les mêmes potentialités. Nous étudierons dès que possible l'hybride réciproque pour vérifier qu'il s'agit bien d'un effet maternel, ce que l'on peut pour l'instant supposer. L'effet hybride proprement dit n'est décelable qu'à partir de ce moment de façon qualitative car là encore une mesure quantitative de l'hétérosis nécessite l'étude de l'hybride réciproque. On peut penser que la manifestation de la vigueur hybride correspond à l'expression des interactions du génome hétérozygote et des informations mitochondriales.

4. — *Essai d'interprétation au niveau de l'individu*

Dans notre étude l'hybride apparaît supérieur aux lignées en ce qui concerne les deux critères suivants :

— le QO 2 des mitochondries d'un individu,

— le rapport ADP/O = ATP fabriqué par oxygène consommé.

Nous avons tenté de réunir ces deux paramètres pour estimer la production d'ATP par individu dans un temps donné : production d'ATP par micro-atome d'oxygène consommé, par minute, par mg de protéines, par individu (fig. 10).

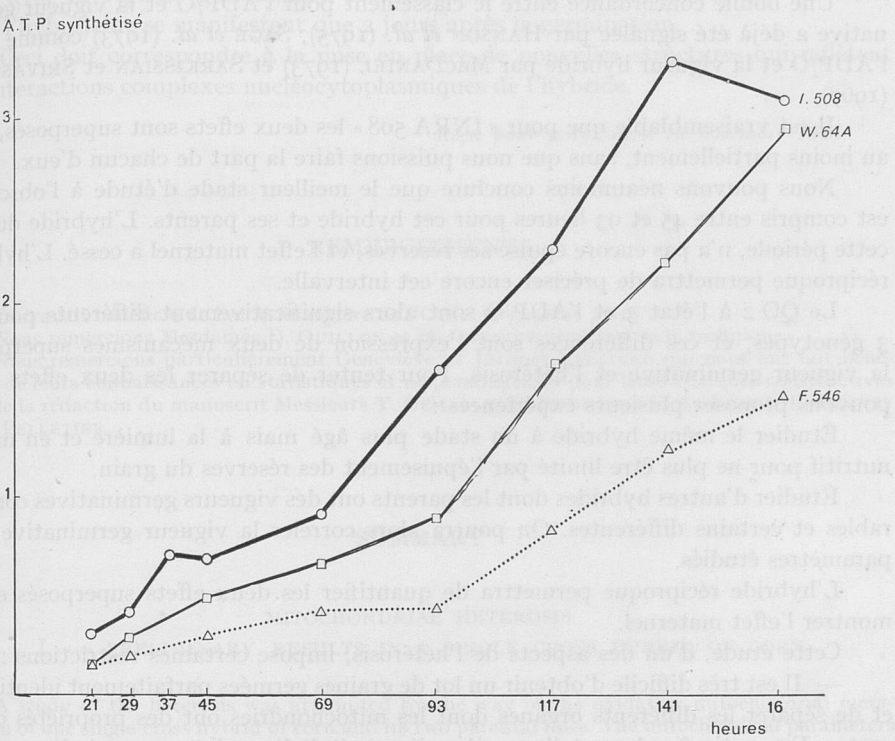


FIG. 10. — *Estimation de la production d'ATP pendant un temps donné pour un individu hybride ou parental*

L'hybride apparaît nettement en tête fabriquant à 141 h 3 ATP pour 2 à la lignée femelle et seulement 1 à la lignée mâle. Par ailleurs les vitesses moyennes d'élongation par 24 h (fig. 6) ne sont pas ordonnées de la même façon. L'hybride qui a déjà épuisé les réserves de la graine est le plus pénalisé après 93 h bien que ses potentialités soient supérieures. La lignée mâle est très en retard, mais elle est capable d'assurer une vitesse de croissance très rapide après 93 h. Il est logique de supposer que durant la phase de croissance lente correspondant au retard, la lignée mâle a accumulé un pool de métabolites immédiatement disponibles. Il n'y a donc pas que la production instantanée d'ATP qui compte, mais aussi la modulation de son utilisation.

Nous avons classé les trois génotypes sans ambiguïté par la mesure de la phosphorylation oxydative :

« INRA 508 » > W 64 A > F 546

Par l'expérimentation, nous avons vu que d'après le rendement le classement est

« INRA 508 » > W 64 A > F 546

et pour la vigueur à la germination on obtient

« INRA 508 » > W 64 A > F 546

Une bonne concordance entre le classement pour l'ADP/O et la vigueur germinative a déjà été signalée par HANSON *et al.* (1975), SAGE *et al.* (1973) comme pour l'ADP/O et la vigueur hybride par MACDANIEL (1973) et SARKISSIAN et SRIVASTAVA (1967).

Il est vraisemblable que pour « INRA 508 » les deux effets sont superposés, tout au moins partiellement, sans que nous puissions faire la part de chacun d'eux.

Nous pouvons néanmoins conclure que le meilleur stade d'étude à l'obscurité est compris entre 45 et 93 heures pour cet hybride et ses parents. L'hybride durant cette période, n'a pas encore épuisé ses réserves, et l'effet maternel a cessé. L'hybride réciproque permettra de préciser encore cet intervalle.

Le QO 2 à l'état 3 et l'ADP/O sont alors significativement différents pour les 3 génotypes, et ces différences sont l'expression de deux mécanismes superposés, la vigueur germinative et l'hétérosis. Pour tenter de séparer les deux effets nous pouvons proposer plusieurs expériences :

Étudier le même hybride à un stade plus âgé mais à la lumière et en milieu nutritif pour ne plus être limité par l'épuisement des réserves du grain.

Étudier d'autres hybrides dont les parents ont des vigueurs germinatives comparables et certains différentes. On pourra alors corréler la vigueur germinative aux paramètres étudiés.

L'hybride réciproque permettra de quantifier les deux effets superposés et de montrer l'effet maternel.

Cette étude, d'un des aspects de l'hétérosis, impose certaines restrictions :

— Il est très difficile d'obtenir un lot de graines germées parfaitement identiques et de séparer les différents organes dont les mitochondries ont des propriétés différentes. En particulier le scutellum, siège d'un métabolisme intense est indispensable pour l'obtention de résultats comparables.

— Le mésocotyle ne se développe largement qu'à l'obscurité. Il est nécessaire d'étudier l'évolution du mésocotyle par rapport au reste de la partie aérienne pour déterminer dans quelle mesure son développement plus ou moins important peut influencer les propriétés des mitochondries extraites.

— Les fractions mitochondriales obtenues rapidement de l'hybride et de ses parents ne sont vraisemblablement pas dans le même état physiologique ou métabolique. La reproductibilité est bonne ce n'est donc pas gênant pour la recherche d'un test de la vigueur hybride mais, pour expliquer les phénomènes, il devient nécessaire de purifier la fraction mitochondriale de ses contaminants. En effet VAZART (1975) a examiné quelques-uns des culots de mitochondries en microscopie électronique et constaté une grande hétérogénéité des organites cellulaires sédimentés. Ce qui rend difficile la comparaison des culots obtenus pour les différents génotypes.

CONCLUSION

Néanmoins dans nos conditions expérimentales pour un hybride simple de maïs et ses parents, germés à l'obscurité, nous avons révélé des variations quantitatives dans le temps et entre génotypes de deux paramètres respiratoires, en rap-

port avec la vigueur germinative et l'hétérosis. Il est remarquable que les effets chez l'hybride ne se manifestent que 2 jours après la germination.

Ceci doit correspondre à la mise en place de nouvelles structures qui reflètent les interactions complexes nucléocytoplasmiques de l'hybride.

Reçu pour publication en novembre 1975.

REMERCIEMENTS

Ce travail bénéficie de l'aide financière de l'O.N.I.C. contrat 75-28.

Nous remercions Mesdames D. GUILLON et H. GARNIER pour leur aide technique.

Nous remercions particulièrement Geneviève et Jacques BELLIARD qui nous ont fait bénéficier de leurs connaissances en statistiques et nous remercions pour leurs critiques constructives lors de la rédaction du manuscrit Messieurs Y. DEMARLY, P. DOMMERGUES, G. DUCET, E. JOLIVET et G. PELLETIER.

SUMMARY

MITOCHONDRIAL HETEROSIS

I. — PRELIMINARY RESULTS IN A SINGLE CROSS HYBRID OF CORN

A study of the heterosis was attempted by the way of the oxidative mitochondrial metabolism of one single cross hybrid of corn and its two parental lines. The mitochondrial parameters were studied by a polarographic method of oxygen measurement. The evolution during the first seven days of germination in darkness was particularly noted for the QO 2 at state 3 and for oxidative phosphorylation (ADP/O).

The best stage of study has been determined, it is limited by the end of the maternal effects and the furnitures starvation of the hybrid seed.

In this interval, the hybrid shows an energetic superiority which is caused probably by the hybrid vigour and by germinative vigour. Those two causes we cannot separate by this study.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

CHANCE B., WILLIAMS G. R., 1955 *a*. Simple and rapid assay of oxidative phosphorylation. *Nature*, **195**, 1120-1121.

CHANCE B., WILLIAMS G. R., 1955 *b*. Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. I. Kinetics of oxygen utilisation. *J. biol. Chem.*, **219**, 383-393.

ESTABROOK R. W., 1967. Mitochondrial respiratory control and the polarographic measurement of ADP/O ratios. In *Methods Enzymology*, ESTABROOK R. W. et PULLMAN M. E. Acad. Press., vol X, 41-47.

HAGEMAN R. H., LENG E. R., DUDLEY J. W., 1967. A biochemical approach to corn breeding. *Adv. Agron.*, **19**, 45-86.

HANSON W. D., MORELAND D. E., SHRINER C. R., 1975. Correlation of mitochondrial activities and plant vigor with genotypic backgrounds in maize and soybean. *Crop Sci.*, **15**, 62-66.

JAWOREK D., GRUBER W., BERGMEYER H. U., 1974. In *Methods of Enzymatic Analysis*, vol 4, BERGMEYER H. U., p. 2127-2131, Academic Press, Inc.

LANCE C., 1971. Les mitochondries de l'inflorescence de chou-fleur : I. Propriétés oxydatives. *Physiol. vég.*, **9**, 259-279.

LOWRY O. H., ROSEBROUGH N. J., FARR A. L., RANDALL R. J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. biol. Chem.*, **193**, 265-275.

MacDaniel R. G., Sarkissian I. V., 1968. Mitochondrial heterosis in maize. *Genetics*, **59**, 465-475.

MacDaniel R. G., 1973. Genetic factors influencing seed vigor : biochemistry of heterosis. *Seed Sci. Technol.*, **1**, 25-50.

Roos E. E., Sarkissian I. V., 1968. Isocitric dehydrogenase and isocitric lyase in heterotic and non heterotic maize (*Zea mays* L.). *Crop Sci.*, **8**, 683-686.

Sage G. C. M., 1973. The expression of heterosis for yield in restored F_1 hybrid wheats and its interaction with seed rate and seed size. *J. agric. Sci.*, **81**, 125-129.

Sarkissian I. V., MacDaniel R. G., 1966. Heterosis : complementation by mitochondria. *Science*, **152**, 1640-1642.

Sarkissian I. V., MacDaniel R. G., 1967. Mitochondrial polymorphism in maize : I. Putative evidence for *de novo* origin of hybrid specific mitochondria. *Proc. nat. Acad. Sci., U.S.A.*, **52**, 1262-1266.

Sarkissian I. V., Srivastava H. K., 1967. Mitochondrial polymorphism in maize : II. Further evidence of correlation of mitochondrial complementation and heterosis. *Genetics*, **57**, 843-850.

Sarkissian I. V., 1972. Mitochondrial polymorphism and heterosis. *Z. Pflanzenzucht.*, **67**, 53-64.

Van Gerlder W. M., Mediema P., 1975. Significance of mitochondrial complementation for plant breeding : negative evidence from a study on maize. *Euphytica*, **24**, 421-429.

Vazart M. (Données non publiées). Faculté d'Amiens, 3, Rue Saint-Leu, Amiens.

Yakoklev A. P., Tureeva M. I., Raskova, 1971. Oxidative and phosphorylating activity of maize mitochondria in connection with heterosis. *Fiziologiya Rastenii*, **18**, 772-776.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (4), 623-628,

DEVELOPMENT AND APPLICATION OF PREDICTION FORMULAE FOR SYNTHETICS (1)

A. GALLAIS

Station d'Amélioration des Plantes fourragères, I. N. R. A., 86600 Lusignan

SUMMARY

In this paper, theoretical results already published by the author (GALLAIS, 1975) are first summarized and then some applications of these results are given. Different prediction formulae are summarized for diploid synthetics, according to genetic effects. From formulae adapted for autotetraploids, an application has been realised on Cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.), a forage grass. For yield, one experiment shows that knowledge of general combining ability of the parents and of the expected frequency of tetragenic loci (P_4, according to the identity by descent relationship) for the second generation synthetic (Syn 2), allows a good prediction of the values of this generation for synthetics with varying numbers of parents. The interest of genetic structure for the prediction has also been verified in another experiment. With a prediction formula using the number of parents, their general combining abilities and the values of their progenies from one generation of self-fertilization, the prediction was very efficient compared with prediction using the general combining ability alone.

In order to select efficiently the parents of a synthetic variety, it is essential to be able to predict the vigour of its commercial generation from characteristics of the parents. Until now, the most used formula of prediction has been the so called « WRIGHT's formula ». In its generalized form (GALLAIS, 1967, 1974) it predicts the value of a diploid synthetic variety in equilibrium (Syn e), knowing the number of parents k, the mean of their progenies by self fertilization ($\overline{P}$) (if they are clones, or homozygous lines), and the mean of all their possible crosses ($\overline{C}$) :

$$\text{Syn } e = 1/k\ \overline{P} + (1 - 1/k)\ \overline{C} \qquad (1)$$

The parents can also be heterozygous lines, crosses, varieties... In such cases $\overline{P}$ represents the mean value of the progenies by random mating within each parent in isolation. The formula is strictly valid only for diploids and with the absence of epistasis.

(1) Communication presented at the *2nd Meeting of Eucarpia, Section « Biometrics in Plant Breeding »*, Budapest, Gödöllö, 11-14th August 1975.

To make the prediction more efficient and to know its limit a new approach of prediction formulae has been developed (GALLAIS, 1975). Extending an approach of BUSBICE (1970), it is possible to use the relationship between vigour and genetic structure (**S**) according to the identity by descent relationship at one locus or several loci considered simultaneously.

$$\text{Syn } e = a + \mathbf{b}'\mathbf{S} \tag{2}$$

(where **S** is a vector of the genetic structure and $\mathbf{b}'$ a vector of weighting coefficients). It has been shown that using one locus parameters, the prediction will be unbiased for all ploidy levels only in the absence of epistasis and with completely inbred parents. However if these conditions are not satisfied, such relationship may be useful from a statistical point of view and will be sufficiently efficient with a relatively great number of parents, not highly selected and with many randomly distributed loci of weak effect. The weighting coefficients in (2) (b) can be determined by using several generations derived from the parents of the synthetics. Using the values $\overline{P}$ and $\overline{C}$, for diploids, we find again the WRIGHT's formula. For autopolyploids, two new useful formulae were derived, in the absence of epistasis and restricting the interactions between alleles to the first order :

$$\text{Syn } e = \overline{C} - \frac{(2\upsilon - 1)}{\upsilon k}(\overline{C} - \overline{P}) \text{ for non-inbred parents} \tag{3}$$

$$\text{Syn } e = \overline{C} + \left[\frac{(\upsilon - 1)}{\upsilon} - \frac{(2\upsilon - 1)}{\upsilon k}\right](\overline{C} - \overline{P}) \text{ for homozygous parents} \tag{4}$$

υ being the degree of autopolyploidy ($\upsilon = 1$ for diploids, $\upsilon = 2$ for autotetraploids...). Formula (3) was also derived by BUSBICE (1974).

Another way to explore prediction formulae consists in expressing the genetic effects which contribute to the value of Syn e in function of the means of different generations derived from the parents. Such means are linear combinations of genetic effects which contribute to the value of Syn e. The number of generations to use and their nature depend on the order of the interactions between genes. For example with interactions of the second order, two and three parent generations will be necessary... and so on. Single, (F_1 or F_2), three way, double crosses, and generations of a n-parent synthetics can be used for the prediction of the k-Syn e, all possible combinations of n parents among k ($n < k$) being realized. This approach also allows an investigation of the bias in the prediction according to the genetic effects. In table 1 we give some unbiased predictors in some situations, for diploids. For autotetraploids similar formulae have been established (GALLAIS, 1975). Obviously the most useful formulae are those using the means $\overline{P}$ and $\overline{C}$, or means derived from a two-parent combination ($\overline{F_2}$, $\overline{2\ \text{Syn}\ m}$).

Using the means $\overline{P}$ and $\overline{C}$ for the prediction it is possible to replace $\overline{C}$ by $\overline{G}$, twice the mean of general combining abilities of the parents, defined in a large diallel, if the specific combining ability is not important. So, without epistasis, for each parent a general synthesising ability or varietal ability (WRIGHT, 1973), *i.e.* its ability to give a good synthetic, can be defined as a linear combination of its value under one generation of self fertilization and twice its general combining ability. The theoretical efficiency of such a genetic index has been discussed by WRIGHT (1974) for diploids.

TABLE I

Unbiased predictor of Syn e for diploids, according to different situations.

(One predictor valid in presence
of particular interactions between genes is also valid in absence of these interactions).
F represents the coefficient of inbreeding. $k_i = k - i$

Situations (1)	Formula
Absence of epistasis whatever F : (A + D)	$P_{00/k} = 1/k\ \overline{P} + (1 - 1/k)\ \overline{C}$
+ Epistasis additive × additive (A × A) whatever F, A + D + AA	$P_{AA/k} = \overline{P} + \frac{2(k-1)}{k}\ (2\overline{Syn\ e} - \overline{P})$ $= \overline{P} + \frac{2(k-1)}{k}\ (\overline{F_2} - \overline{P})$ (2) $= P_{00/k} + \frac{4(k-1)}{k}\ (\overline{T} - \overline{C})$ (2)
+ Epistasis additive × dominance (A × D) F = 1, A + D + AA + AD	$P_{AD/k} = P_{AA/k} + \frac{9}{2}\frac{(k-1)(k-2)}{k^2}\ (3\overline{Syn\ e} - P_{AA/3})$ $= P_{00/k} + \frac{4(k-1)}{k^2}\left[\overline{F_2} - 1/2\ \overline{P} - 1/2\ \overline{C}\right] + \frac{4(k-1)(k-2)}{k^2}\ (\overline{T} - \overline{C})$ (2)
+ Epistasis dominance × dominance (D × D) F = 1, A + D + AA + AD + DD	$P_{DD/k} = P_{AD/k} + \frac{4^2}{6}\frac{k_1k_2k_3}{k^3}\ (4\overline{Syn\ e} - P_{AD/3})$

(1) In increasing order of complexity.
(2) In the absence of linkage ; in presence of linkage the frequency of recombination must be considered (GALLAIS, 1975).

A statistical index with $\overline{P}$ and $\overline{G}$ can also be used as predictor.

$$\text{Syn } e = b_0 + b_1 \overline{P} + b_2 \overline{C}$$

where b_1 and b_2 are coefficients of regression. For diploids, in the absence of epistasis, we have studied (GALLAIS, 1975) the efficiency of such a predictor by a numerical application according to the values of different parameters : the number of parents candidate to the selection, the size of the synthetics, the effect of the environment (heritability), the correlation between the value under self-fertilization and the general combining ability of one parent, and the relative importance of the variances of specific combining ability and of the values of progenies from self-fertilization of the parent in comparison to the variance of the general combining ability (additive variance). As expected the predictor using $\overline{P}$ and $\overline{G}$ is always more efficient than predictor using $\overline{P}$ or $\overline{G}$ alone. It is better than the selection between observed value of the synthetics except with high specific combining ability variance and small variance between progenies from self fertilization of the parents combined with a small number of parents. In comparison to the usual predictor using $\overline{G}$ alone, it appears that the index will be more efficient for a low number of parents and a great variance among progenies from self-fertilization of the parents in comparison to the general combining ability variance. It must be mentioned that the statistical index is also more efficient that the genetic index :

$$\text{Syn } e = 1/k \, \overline{P} + (1 - 1/k) \, \overline{G}$$

The theory has been applied to two experiments with Cocksfoot (*Dactylis glomerata*, L.), an autotetraploid forage grass, evaluated for yield at high density. First, it was verified that due to the selfsterility phenomenon the Syn 1 can be easily predicted by the mean $\overline{C}$ of all crosses among the parents and also by $\overline{G}$ (twice the mean of the

TABLE 2

Correlations between observed and predicted for yield values (by multiple regression) *showing the interest of the genetic structure* (P_4 frequency of tetragenic loci).

$\overline{C}$: mean of all possible crosses among the parents,
$\overline{G}$: mean of the general combining abilities of the parents,
Syn 1, Syn 2, Syn 3 : 1st, 2nd and 3rd generation of the synthetics.

Variables in the predictors	1st experiment				2nd experiment	
	$\overline{C}$	$\overline{C}$, P_4	$\overline{G}$	$\overline{G}$, P_4	Syn 1	Syn 1, P_4
Syn 2	0.73**	0.85**	0.64**	0.78**	0.71**	0.84**
Syn 3	—	—	—	—	0.51**	0.66**

*, ** significance respectively at 0.05 and 0.01.
1st experiment : 21 synthetics (3 with 8 parents, 6 with 4, 12 with 2).
2nd experiment : 25 synthetics (7 with 2 parents, 7 with 3, 7 with 4)
2 with 5 parents, 1 with 6, 1 with 7).

general combining abilities of the parents). When synthetics with different numbers of parents are considered, predictors including a parameter of the genetic structure (P_4 = frequency of tetragenic loci) with $\overline{G}$ or with the Syn 1 values, give a more accurate prediction (table 2). Using formulae of prediction with $\overline{C}$ (or $\overline{G}$) and $\overline{P}$, it was found that formula (4) for homozygous parents was better than formula (3) for non inbred parents, in spite of the fact that the parents were non or little inbred. Some results are given in table 3. The interest of the simultaneous consideration of $\overline{C}$ (or $\overline{G}$) and $\overline{P}$ appears. The specific combining abilities of the parents do not disturb the prediction except with the more inbred parents. Both experiments revealed the great importance of the origin of the parents. The predictor using the value under one generation of self fertilization and the general combining ability of the parents appears very useful. Results from BUSBICE (1974) on Lucerne support also this conclusion.

TABLE 3

Efficiency of some predictors showing, for the 1st experiment, the interest of adding the value of the parents under self fertilization to their general combining ability

(measured by the correlation between observed and expected values for yield)

Variables in the predictors	$\overline{P}$	$\overline{G}$	$\overline{C}$	k, $\overline{P}$, $\overline{C}$ (1)	k, $\overline{P}$, $\overline{G}$ (2)
Syn 2.....	0.58**	0.62**	0.73**	0.82**	0.79**

(1) Predictor of equation 4.

(2) Predictor derived from equation 4 in which $\overline{G}$ replaces $\overline{C}$.

So, it appears that it is possible, theoretically and practically, to adapt new formulae to enable a better prediction of the commercial generation of k-parent synthetics. For the breeder, it will not be necessary to test all combinations of parents in synthetics but only those expected to be the best.

Reçu pour publication en octobre 1975.

RÉSUMÉ

DÉVELOPPEMENT ET APPLICATION DE FORMULES DE PRÉVISION DE LA VALEUR DES VARIÉTÉS SYNTHÉTIQUES

Cet article résume des résultats théoriques obtenus par l'auteur, déjà publiés (GALLAIS, 1975) et en donne quelques applications. Les principales formules de prévision pour les diploïdes sont récapitulées selon les effets génétiques.

A partir des formules adaptées pour les autotétraploïdes, une application a été réalisée sur une graminée fourragère, le Dactyle. Une première expérience montre que la considération simultanée de l'aptitude générale à la combinaison des parents et de la fréquence attendue des loci tétragéniques (P_4) dans la deuxième génération de multiplication (Syn 2) permet une assez bonne prévision du rendement de cette génération pour des variétés synthétiques à nombre variable de parents. L'intérêt de la structure génétique a aussi été vérifié dans une autre expérience. La prévision selon une formule considérant à la fois le nombre de parents, leur valeur en autofécondation et leur aptitude à la combinaison a été très bonne en comparaison des prévisions sur la base de l'aptitude à la combinaison, ou de la valeur en autofécondation des parents. Ces possibilités de prévision devraient améliorer l'efficacité de la sélection des variétés synthétiques.

REFERENCES

Busbice T. H., 1970. Predicting yield of synthetic varieties. *Crop Sci.*, **10**, 265-269.

Busbice T. H., Gurgis R. Y., 1974. Methods of breeding forage varieties based on the coefficient of inbreeding. *Proc., 12 intern. Grassl. Congress*, Moscow.

Gallais A., 1967. Évolution de la vigueur des variétés synthétiques diploïdes au cours des générations de multiplication. I. En panmixie. *Ann. Amelior. Plantes*, **17**, 291-301.

Gallais A., 1974. Selection among synthetics. *Theor. appl. Genet.*, **44**, 24-30.

Gallais A., 1975. Prévision de la vigueur et sélection des parents d'une variété synthétique. *Ann. Amélior. Plantes*, **25**, 233-264.

Wright A. J., 1973. The selection of parents for synthetic varieties of out-breeding diploid crops. *Theor. appl. Genet.*, **43**, 79-82.

Wright A. J., 1974. A genetic theory of general varietal ability for diploid crops. *Theor. appl. Genet.*, **45**, 163-169.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (4), 629-637.

ÉTUDE DE LA MISE A FLEUR DE QUELQUES GRAMINÉES FOURRAGÈRES

M. GILLET

avec la collaboration technique de J. JADAS-HECART et M. QUESNOY

Station d'Amélioration des Plantes fourragères, I. N. R. A., 86600 Lusignan

RÉSUMÉ

Nous avons essayé de provoquer artificiellement la mise à fleur de six génotypes de trois espèces de graminées fourragères (Dactyle, Fétuque des prés, Fétuque élevée), en comparant deux âges préalables à la vernalisation (2 et 11 semaines) pour tenir compte de la phase juvénile, deux durées de vernalisation à + 5°C en jours courts (2 et 4 mois) et deux intensités d'éclairement pendant cette vernalisation (5 000 et 15 000 lux). L'induction secondaire était ensuite assurée en jours continus. L'objectif a été presque atteint puisqu'on a pu mettre à fleur 34 plantes sur 36 par 11 semaines de phase juvénile puis 4 mois de froid à 15 000 lux.

L'analyse des résultats permet d'apporter les précisions suivantes sur la connaissance de la mise à fleur des graminées :

— aucun génotype n'a présenté de phase juvénile absolue ;

— les relations entre l'âge de la plante et ses besoins d'induction primaire diffèrent largement selon les génotypes ;

— ces relations permettent de retrouver les degrés d'alternativité ;

— la variabilité génétique est aussi grande à l'intérieur d'une espèce, qu'entre espèces différentes ;

— l'induction de l'allongement de la tige et celle de la mise à fleur proprement dite, sont distinctes.

INTRODUCTION

La plupart des graminées fourragères demandent deux ans par génération. Mis à part les ray-grass, on connaît trop mal leurs besoins de mise à fleur pour pouvoir obtenir à volonté leur reproduction en conditions artificielles. Ce que l'on sait peut se résumer ainsi :

Elles exigent, pour leur mise à fleur, une *induction primaire*, normalement fournie par le froid (vernalisation) et/ou par les jours courts, suivie d'une *induction secondaire* par les jours longs (BLONDON, 1962 et 1968). Pour l'induction

primaire, le niveau d'éclairement peut jouer un rôle (BLONDON, 1972). Des plantes trop jeunes peuvent être insensibles ou peu sensibles à toute induction : c'est la *phase juvénile* (FEDOROV, 1958 ; KOZUMPLIK et CHRISTIE, 1972). Si l'induction secondaire est assurée par des jours continus, ces plantes traversent, dans leur évolution morphologique vers la floraison, *deux stades-seuils* et deux seulement : « *Stries Blanches* » (*SB*) (apparition visible des ébauches d'entre-Nœuds) qui marque le début d'allongement de la tige de rosette, et « *Doubles Rides* » (*DR*) (ébauche de panicule) qui marque la fin du fonctionnement végétatif de l'apex au bénéfice de son fonctionnement reproducteur (GILLET, 1970).

On sait qu'une satisfaction plus complète de l'un de ces besoins peut entraîner une diminution des besoins ultérieurs dans certains cas, mais on ne sait pas lesquels, ni selon quels mécanismes. On ignore aussi le degré quantitatif de ces exigences et la variabilité génétique de tout cela.

Nous avons réalisé une expérience en 1969 sur ce sujet, dans deux buts :

— Un but pratique : voir s'il est possible et rentable d'accélérer artificiellement les générations, ainsi que d'étudier, dans des conditions strictes et contrôlées, deux caractéristiques importantes : la précocité et l'alternativité. La précocité caractérise la rapidité de montaison et d'épiaison après un hiver. L'alternativité est l'aptitude, pour des plantes pérennes, à former des tiges, après un semis de printemps, avant d'avoir connu leur premier hiver.

— Un but théorique : améliorer les connaissances sur les relations entre les différents besoins de la mise à fleur.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous avons essayé de provoquer le développement, en condition artificielle, de six génotypes de trois espèces de graminées, différant aussi largement que possible par leur précocité et par leur alternativité (tabl. 1). Par génotype, nous entendons variété commerciale ou écotype, ce qui pour ces espèces allogames, comporte une certaine variabilité génétique.

TABLEAU I

Caractéristiques des génotypes étudiés

Génotypes	Espèce	Variété ou origine	Caractéristiques
1	Dactyle (*Dactylis glomerata*)	Variété « Ariès »	Très précoce, non alternatif
2	Dactyle (*Dactylis glomerata*)	Variété « Barenza »	Très tardif, alternatif
3	Fétuque des prés (*Festuca pratensis*)	Variété « Sequana »	Tardif, très peu alternatif
4	Fétuque élevée (*Festuca arundinacea*)	Écotype français	Demi-précoce, demi-alternatif
5	Fétuque élevée (*Festuca arundinacea*)	Écotype hongrois	Très tardif, peu alternatif
6	Fétuque élevée (*Festuca arundinacea*)	Écotype polonais	Très tardif, non alternatif

Le principe de l'expérience consistait à comparer :

— *Deux âges au début de l'induction primaire* (pour avoir une idée de *la phase juvénile*) : 2 semaines à partir du semis, c'est-à-dire dès la levée, ou 11 semaines, stade plus tardif que les plus longues phases juvéniles signalées dans la littérature (FEDOROV, 1958) car le tallage était très avancé : les plantes étaient en effet, pendant ce temps, *à 20°C en jours continus de 15 000 lux.*

— *Deux intensités d'éclairement pendant l'induction primaire* (5 000 et 15 000 lux).

— *Deux durées d'induction primaire* (2 ou 4 mois) en jours de 8 h à + 5°C (température choisie pour être à coup sûr vernalisante pour n'importe quel génotype).

Après les traitements d'induction primaire, les plantes étaient ramenées pendant 2 mois en jours continus de 15 000 lux à 20°C pour l'induction secondaire et la montée à fleur.

Il y avait donc *en tout 8 traitements* (2 × 2 × 2).

Les plantes étaient semées en chambre de culture, en Jiffy-pots, puis repiquées dès la germination dans un mélange terre-terreau-sable, à 10 × 14 cm d'écartement afin d'éviter une trop grande compétition pour la lumière entre génotypes différents.

Chaque traitement comportait six plantes par génotype (nombre maximum autorisé par la place dans les chambres de culture pour respecter cet écartement).

La lumière était fournie par des tubes fluorescents supplémentés, à raison de 20 p. 100 de la puissance, par des lampes à incandescence sous-voltées, l'ensemble produisant une lumière « blanche », mais très riche en rouge sombre et infrarouge, nécessaires pour l'induction photopériodique.

A la fin de l'expérience, les plantes possédant des épis ont été notées, les autres disséquées pour savoir si elles avaient ou non franchi les stades SB et DR.

RÉSULTATS

Aucune plante n'a atteint le stade DR sans avoir franchi le stade SB, ce qui est un argument supplémentaire pour affirmer qu'un début d'allongement de la tige est un préalable indispensable à la transformation de l'apex (GILLET, 1970).

Sur 280 plantes, 147 avaient franchi DR à la fin de l'expérience, dont dix seulement n'avaient pas encore épié, ce qui confirme que DR est le dernier seuil à franchir si les plantes sont en jours longs (GILLET, 1970). Par contre 92 étaient restées entre SB et DR.

Nous étudierons l'effet des différents facteurs sur la mise à fleur potentiellement complète, c'est-à-dire sur la formation de la panicule (DR), et leur contribution au stade préparatoire, l'apparition d'ébauches d'entre-nœuds sur la tige (SB).

Le tableau 2 montre que la *durée du froid* a une forte influence sur la mise à fleur, que celle-ci soit jugée à l'un ou à l'autre des deux stades-seuils. Il en est de même du *génotype*, ce qui montre qu'il existe une forte *variabilité génétique pour la propension à fleurir. L'âge au début de l'induction primaire* n'a eu d'effet significatif que sur la mise à fleur complète (stade DR). Encore cet effet fut-il moins important que les précédents. Le *niveau d'éclairement* n'a eu aucun effet significatif : 5 000 lux étaient donc globalement suffisants, compte tenu des conditions choisies pour l'induction primaire (température très basse et jours très courts) (BLONDON, 1969).

L'étude des interactions a montré qu'elles étaient significatives :

— au niveau du stade DR : — entre âge et froid,
— entre éclairement et froid.

— au niveau des deux stades : — entre génotype et âge,
— entre génotype et froid.

Les deux premières interactions s'expliquent simplement : l'âge préalable et l'intensité d'éclairement ont eu tous deux plus d'effet en présence de quatre mois de froid, que de deux mois.

En ce qui concerne l'âge au début de l'induction primaire, la faiblesse de son effet principal et l'existence de cette interaction avec le froid correspondent bien à la théorie habituelle qui veut qu'il n'ait pas d'effet direct, mais doive seulement dépasser la phase juvénile pour sensibiliser la plante aux conditions d'induction primaire.

Les autres interactions, faisant intervenir le génotype, seront examinées lors de notre discussion, car elles ont une assez grande portée théorique.

TABLEAU 2

Effet des facteurs étudiés sur la mise à fleur

	Age avant induction primaire		Durée du froid		Éclairement au froid		Génotype					
	2 sem.	11 sem.	2 mois	4 mois	5 000 lux	15 000 lux	1	2	3	4	5	6
Pourcentage de plantes ayant franchi DR ..	43	62	30	76	50	55	34	52	71	90	37	29
Signification	SS		SS		NS		SS					
Pourcentage de plantes ayant franchi SB ..	82	89	79	92	84	87	40	85	100	100	88	98
Signification	NS		SS		NS		SS					

DISCUSSION

Du point de vue pratique

L'objectif a été presque atteint puisqu'un traitement a permis de mettre à fleur 34 plantes sur 36. Mais ce traitement a été le plus complet : 11 semaines de croissance puis 4 mois de froid à 15 000 lux, sans compter les mois nécessaires ensuite pour obtenir l'épiaison puis la floraison et la maturité des graines ; voilà qui n'est pas beaucoup plus rapide que dans la nature et coûte très cher. On pourrait réduire la durée de la vernalisation si on faisait agir les jours courts seulement, à des températures tièdes, de l'ordre de 17°C. Mais si cela est possible pour certaines espèces comme le Dactyle, (Blondon, 1968) cela ne l'est pas pour d'autres, comme la Fétuque élevée (Blondon, 1969).

On ne possède donc pas encore de moyen économique et rapide de contrôler à volonté la mise à fleur de ces espèces.

Du point de vue théorique

Cette expérience nous apporte les enseignements suivants :

1. *Aucun de nos génotypes n'a présenté de phase juvénile absolue.*

Le phénomène de la phase juvénile peut être en effet absolu (aucune induction n'est possible avant un certain âge), ou relatif (l'âge diminue, ou annule, les besoins d'induction) ou les deux.

Or, dans nos expériences, quatre mois de froid ont toujours eu une certaine efficacité, même sur des plantes à la levée. Ceci contredit les conclusions de FEDOROV (1958) et de KOZUMPLIK et CHRISTIE (1972). Mais d'une part, leurs génotypes n'étaient pas les mêmes que les nôtres ; d'autre part FEDOROV faisait induire ses plantes par l'hiver en Russie, et la vernalisation nécessite des feuilles vertes, fonctionnelles. Compte tenu des dégâts foliaires hivernaux dans ce pays, il est probable que ses plantes n'ont pas eu l'équivalent de nos 4 mois à + 5°C. KOZUMPLIK et CHRISTIE (1972) ont donné 6 semaines seulement de vernalisation, en jours de 10 heures ce qui est moins efficace que 8 heures, mais il est vrai à + 10°C, ce qui est possible chez le Dactyle et rend le processus plus rapide. Il est douteux pourtant que cela ait équivalu à nos 4 mois à + 5°C.

2. *Les relations entre l'âge de la plante et ses besoins d'induction primaire diffèrent largement selon les génotypes.*

Il ressort du point précédent, que nos génotypes sont tous vernalisables dès la levée, à condition de subir une forte dose de froid, supérieure à un seuil que nous appellerons F. Si elles sont très âgées, leurs besoins seront stabilisés à un niveau plus faible que nous appellerons f. Nous avons schématisé cette situation dans la figure 1.

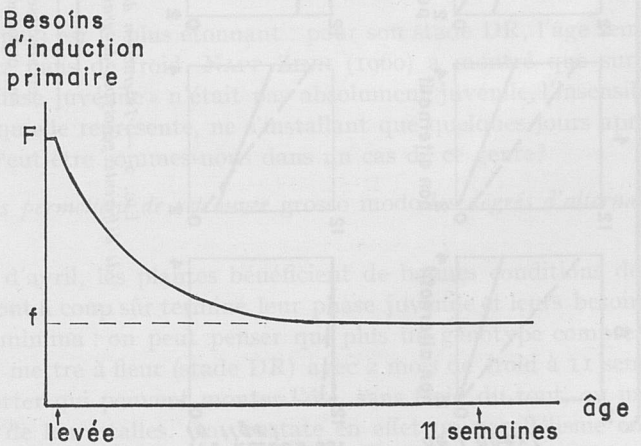


FIG. 1. — *Relations entre l'âge et les besoins d'induction primaire* (exprimés en mois de vernalisation)

Examinons maintenant les interactions génotype × âge et génotype × froid pour la mise à fleur complète (stade Double Ride). Figure 2, nous avons représenté, pour chaque génotype, le résultat des 4 traitements faisant intervenir l'âge et la durée

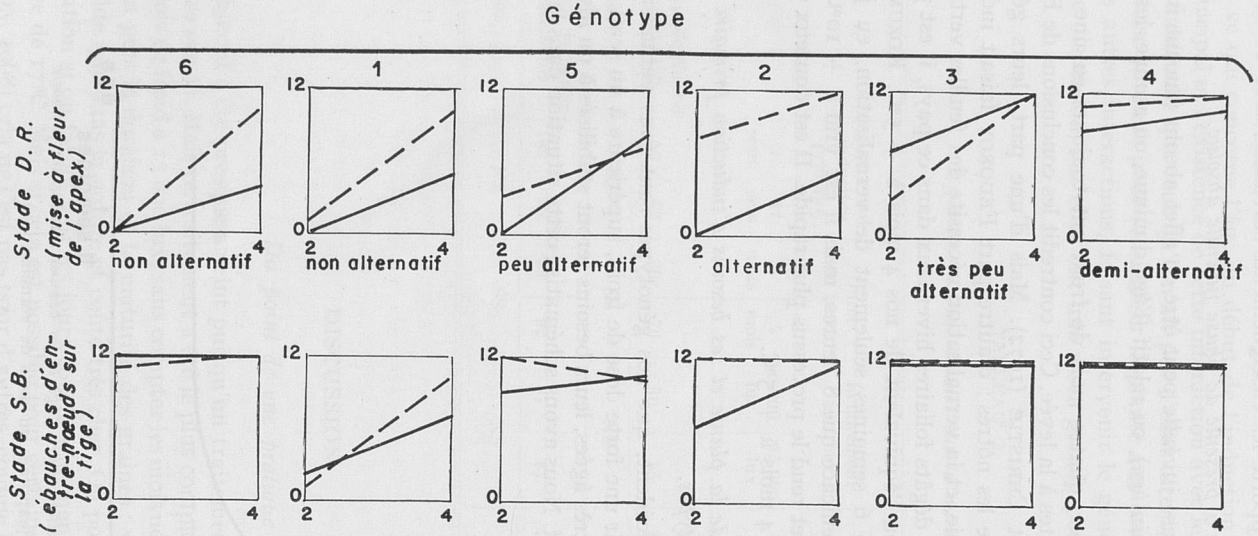


FIG. 2. — *Interaction de l'âge et de la durée de froid sur la mise à fleur de différents génotypes de graminées classés selon leur propension croissante à fleurir*

——— Plantes jeunes (2 semaines)
— — — — Plantes âgées (11 semaines)
en abscisse : durée du froid (en mois)
en ordonnée : nombre de plantes (sur 12) ayant franchi le stade considéré.

de froid (les deux niveaux d'éclairement, étant sans effet, ont été regroupés). Les génotypes ont été classés selon leur propension à fleurir (d'après le tableau 2) en ordre croissant.

Si, pour un génotype, nos deux doses de froid (2 et 4 mois) sont intermédiaires entre les valeurs F et f de la figure 1, l'âge doit améliorer leur efficacité à toutes deux. La figure 2 montre que c'est le cas du génotype n° 2 pour le stade DR.

Si 2 mois de froid sont inférieurs au seuil f, ils seront inefficaces quel que soit l'âge, alors que celui-ci améliorera l'efficacité de 4 mois de froid si cette durée est comprise entre F et f : c'est le cas des génotypes 1 et 6 pour le stade DR et, semble-t-il, 1 pour le stade SB.

Si 4 mois de froid sont supérieurs à F on aura une induction totale quel que soit l'âge, alors que celui-ci améliorera l'efficacité de 2 mois si cette durée est comprise entre F et f : c'est le cas du génotype 2 pour le stade SB.

Si même 2 mois de froid sont supérieurs à F, l'induction sera totale quel que soit le traitement : on reconnaît les génotypes 6, 3 et 4 pour SB.

Le cas du génotype 4 pour DR semble intermédiaire entre les deux précédents, celui du numéro 5 pour SB, probablement aussi.

Deux cas semblent plus difficiles à expliquer par ce mécanisme classique : ceux des génotypes 5 et 3 pour DR.

On pourrait expliquer le premier de ces deux cas en imaginant que ce numéro 5 est constitué d'un mélange de deux types de plantes : pour deux tiers d'entre elles, 4 mois de froid seraient supérieurs à F, et 2 mois seraient intermédiaires entre F et f : l'âge améliorerait l'efficacité des 2 mois, et avec 4 mois, ces 2/3 des plantes seraient toutes vernalisées quel que soit l'âge. Pour le tiers restant, même 4 mois seraient inférieurs à f, et aucun de nos traitements ne serait capable de les faire monter (pour elles, les 15 000 lux seraient efficaces mais nous ne pouvons dire si cela est significatif).

Le génotype 3 est le plus étonnant : pour son stade DR, l'âge semble *diminuer* l'efficacité de 2 mois de froid. Napp Zinn (1960) a montré que sur *Arabidopsis thaliana* la « phase juvénile » n'était pas absolument juvénile, l'insensibilité relative à l'induction, qu'elle représente, ne s'installant que quelques jours après la mise en germination. Peut-être sommes-nous dans un cas de ce genre?

3. *Ces relations permettent de retrouver* grosso modo *les degrés d'alternativité chez ces espèces.*

En semis d'avril, les plantes bénéficient de bonnes conditions de croissance : dès l'été, elles ont à coup sûr terminé leur phase juvénile et leurs besoins d'induction primaire sont minima : on peut penser que plus un génotype comprend de plantes capables de se mettre à fleur (stade DR) avec 2 mois de froid à 11 semaines, plus il doit en comporter qui peuvent monter l'été, sans froid du tout, au moins pour les plus avancées de leurs talles. On constate en effet un parallélisme entre ces deux grandeurs, comme le montrent les indications d'alternativité reportées sur la figure 2.

4. *Les résultats de cette expérience n'expliquent pas les classements de précocité.*

Ceci semble logique : la mise à fleur est normalement déclenchée par les jours longs (induction secondaire). Quand le seuil est atteint, au printemps, l'induction primaire est sans doute, dans la nature, satisfaite depuis longtemps, de sorte que le

début de la mise à fleur doit dépendre de ce seuil (génétique) de jours longs. Nous avions effacé ces différences en réalisant l'induction secondaire en jours continus, supérieurs à tous les seuils.

5. *La variabilité génétique est très grande* aussi bien pour la propension à fleurir (tabl. 2) que pour les relations entre âge et besoins d'induction primaire (cf. ci-dessus), et *elle est aussi grande à l'intérieur d'une espèce qu'entre espèces différentes.* Ainsi, les génotypes 1 et 6, qui ont les mêmes réactions, n'appartiennent pas à la même espèce et les génotypes 4, 5, et 6, très différents, sont trois fétuques élevées.

6. *L'induction de l'allongement de la tige et celle de la mise à fleur proprement dite sont distinctes.*

On sait que l'allongement de la tige et la mise à fleur proprement dite sont distincts au niveau de leur vitesse de réalisation, étant mal synchronisés (MANSAT, 1965).

Nous avions émis l'opinion (GILLET, 1970) qu'ils étaient distincts également au niveau des exigences de leur induction. Bien sûr, nous avions affirmé (*op. cit.*) que l'apparition des entre-nœuds était un préalable indispensable à la transformation de l'apex (ce qui s'est confirmé ici pour toutes les plantes disséquées). Nous expliquions cette contradiction apparente, de la manière suivante : le début de la transformation de l'apex exigerait à la fois son induction propre et le début d'allongement de la tige. Selon les conditions, l'induction de l'apex était acquise la première, et les deux phénomènes (stades Stries Blanches et Doubles Rides) apparaissaient presque simultanément, paraissant alors obéir au même déterminisme ; ou bien l'induction de l'allongement de la tige était obtenue d'abord, et les deux stades étaient nettement séparés dans le temps, permettant de voir leurs réponses différentes aux conditions inductrices.

Dans l'expérience présente, nous sommes dans le second cas, puisqu'à traitement égal, beaucoup plus de génotypes ont franchi le stade Stries Blanches que le stade Doubles Rides (tabl. 2).

Dans ces conditions, nos résultats apportent un nouvel argument montrant que ces deux inductions sont distinctes : en effet, le classement des génotypes n'est pas le même pour les deux stades (tabl. 2 et fig. 2) : pour les numéros 1 et 4, il est à peu près aussi facile (ou difficile) d'obtenir DR que d'obtenir SB ; pour les numéros 2, 3 et 5 c'est un peu plus difficile ; et pour le n° 6 cela l'est encore beaucoup plus.

Reçu pour publication en juillet 1975.

SUMMARY

STUDY OF THE FLOWERING PROCESS OF SOME FORAGE GRASSES

To induce their flowering process, forage grasses may have an insensitive juvenile phase, then need a primary induction (vernalization, short days), then a secondary induction (long days) (BLONDON, 1968). They first initiate their internode formation (« SB » stage) then their panicle formation (« DR » stage GILLET, 1970), after what they encounter no obstacle to heading in long days.

We have tried to induce artificially flowering of six genotypes of 3 species of grasses : Cocksfoot, Meadow Fescue, Tall Fescue (table 1).

The plants were sown, then transplanted at germination 10 × 14 cm apart to 20°C and 15 000 lux continuous artificial light for either 2 or 11 weeks (for completion of the juvenile phase). They were then transferred to 5°C and 5 000 or 15 000 lux 8 hour artificial light for either 2 or 4 months (for primary induction), and finally returned to the first conditions for 2 months for secondary induction and flower formation. Each of these 8 (2 × 2 × 2) treatments included 6 plants per genotype. At the end of the experiment, the headed plants were noted, the other ones were dissected to see if they had reached the SB and DR stages. On 280 plants, 239 had reached SB ; among then, 147 had reached DR, all of which except 10 had headed.

Table 2 indicates a wide genetic variability for tendency to flower (« genotype effect »), a large effect of duration of cold, no effect of light intensity during cold and a slight effect of age before vernalization on DR stage only. Those two last factors show a significant interaction with duration of cold : their efficiency is better with 4 months cold.

These results agree with present knowledge : light intensity is important only under mild temperatures for primary induction, (BLONDON, 1969), and the current theory upon juvenile phase is that age has no direct efficiency but only in interaction with subsequent primary induction.

The practical object of this experiment has been nearly attained, since with 11 weeks of growth, followed by 4 months cold with 15 000 lux, 34 plants on 36 had reached DR stage two months after, throughout all genotypes. But such a treatment is too expensive to be used frequently for practical purposes.

From a physiological point of view, following conclusions may be drawn :

— None of the genotypes studied has shown an absolute juvenile phase. The disagreement between this finding and those of FEDOROV (1958) and KOZUMPLIK and CHRISTIE (1972) is discussed.

— The relations between age and primary induction are largely different from one genotype to another (fig. 2).

— These relations account for the alternativity (ability for the grasses to produce heads before the first winter when spring sown).

— Genotypic variability is as large within a species than between species (compare table 2 and fig. 2 with table 1).

— Induction of stem elongation and induction of panicle formation are different phenomenons, because the relative ranks of the different genotypes for tendency to flower when measured at DR stage is not the same than when measured at SB stage (table 2 and fig. 2).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BLONDON F., 1962. *Contribution à l'étude du développement des graminées fourragères : ray-grass et dactyle.* Thèse Ing. Doct., Paris 101 p.

BLONDON F., 1968. *Facteurs externes et déterminisme floral d'un clône de* Dactylis glomerata L. Thèse, Paris, A. O. 2522, 131 p.

BLONDON F., 1969. Effets de la température et de la photopériode sur la mise à fleur de deux cultivars extrêmes de *Festuca arundinacea* SCHREB. *C. R. Acad. Agric.* Fr., **55** (3), 182-189.

BLONDON F., 1972. Action de différentes intensités d'éclairement en jours continus, à diverses températures, sur les processus préparatoires à la floraison chez un clone de *Festuca arundinacea* SCHREB. *C. R. Acad. Ser. D.*, **274** (2), 218-221.

FEDOROV A. K., 1958. Phasic development in perennial herbage grasses. (R.) *Agrobiologija*, **109** (5), 57-59.

GILLET M., 1970. *Sur quelques aspects de la croissance et du développement de la plante entière de graminée en conditions naturelles* : Festuca pratensis HUDS. Thèse, Poitiers, A. O. 2633, 190 p.

KOZUMPLIK V., CHRISTIE B. R., 1972. Completion of the juvenile stage in orchardgrass. *Canad. J. Plant., Sci.*, **52**, 203-207.

MANSAT P., 1965. Variation de la longueur de tige et réalisation d'un stade de développement chez les graminées fourragères. *Ann. Amélior. Plantes*, **15** (1), 53-60.

NAPP ZINN K., 1960. Vernalisation, Licht und Alter bei *Arabidopsis thaliana* (L.) HEYDN. *Planta*, **54**, 409-452.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (4), 639-646.

THE USE OF HETEROSIS IN AUTOTETRAPLOID CROSS-FERTILIZED PLANTS WITH SOME APPLICATIONS TO LUCERNE AND COCKSFOOT (1)

A. GALLAIS

Station d'Amélioration des Plantes fourragères, I. N. R. A., 86600 Lusignan

SUMMARY

In this paper taking into account the particularities introduced by the autopolyploid state, we discuss several points which affect the chance of success in building a variety, hybrid or synthetic, in the presence of heterosis. It is underlined that inbreeding does not increase always the variance among lines, hybrids, or synthetics. An optimum level of inbreeding can exist. Some results for Cocksfoot and Lucerne seem to agree with this conclusion. The problem of an optimal base for a variety is discussed, and some new prediction formulae are given for three way and double crosses.

In many cross-fertilized forage plants, heterosis is a main factor of dry matter yield. So the problem for the breeder is to use it efficiently in a given type of variety : hybrid or synthetic. The level of the best variety of a given type depends on three factors (GALLAIS, 1974 *a*) : — the mean of the initial population, — the deviation of the mean of all varieties of the same type from the population mean, — the variance among varieties. The theory of plant breeding must consider these three kinds of factors and must give the elements to define the optimal type of variety and so predict the value of a particular variety. In this paper we will underline the particularities introduced by the autotetraploid state in comparison with the diploid.

(1) Communication présentée à la *Réunion de la Section fourragère EUCARPIA*, Zurich, 23-25 avril 1975.

Such particularities come from the diploid state of the gametes and the possibility of tri-and tetragenic interactions at one locus. Where possible theoretical conclusions will be illustrated with some experimental results.

Population improvement in autopolyploids

Population improvement before building a variety is useful for any type of variety but especially for synthetics in order to decrease the inbreeding effect. Population improvement can be achieved by intra or inter population recurrent selection. The aim is to accumulate the advantage of several selection cycles. Little is known of the efficiency of the different methods as affected by the level of ploidy. However it can be mentioned directly that with autopolyploids selfed family selection cannot be used for several cycles of selection because it will accumulate inbreeding. Selfed progeny test with recombination of the non inbred mother plants will be better than selfed family selection which recombines inbred plants; these two methods are identical for diploids. For the other methods we may expect, *a priori*, the same conclusions as for diploids. However a difference from diploids which can also be pointed out is the effect of relaxation of a recurrent within population selection. With absence of epistasis, in diploids the genetic advance remains stable after random mating without selection. With autotetraploids, due to digenic interactions it decreases toward an equilibrium only due to the additive variance. (GALLAIS, 1975 *b* ; WRIGHT, 1975).

As far as the meaning of additive variance is concerned, HILL (1971) mentioned that response to selection in autotetraploids would always be less than in diploids. This be can true with biallelism for one locus with additivity and with some types of dominance, if the difference between dominant and recessive homozygous genotypes is the same for both states of ploidy. Practical results on such problems are still lacking.

To increase the variance among individuals, families or varieties and to use heterosis, inbreeding and crossing are the two main operators of transformation at the disposal of the breeder. We summarize here their effects on the means and on the variances.

Effect of selfing on the mean and variance of an autopolyploid population

The higher the order of interactions between alleles, the greater will be the inbreeding effect. Autopolyploidy stabilizes heterosis only if interactions between alleles are restricted to the first order. On Lucerne and Cocksfoot, many experiments show that tri-or tetragenic interactions are very important (BUSBICE, 1966 ; DEMARLY, 1964 ; GALLAIS, 1967 ; GUY, 1966 ; GUY, 1971 ; see also some new results, table 1).

As with diploids, the change in variance among families under selfing depends on the nature of the genetic variation (GALLAIS, 1968). A difference from diploids appears in the case where the variability is controlled by tetragenic interactions. As the frequency of such interactions decreases rapidly, it is possible for the variance among families first to increase and then to decrease.

Some of our experimental results on Lucerne show such a trend (table 1), which may be reinforced by epistatic effects. Such effects can compromise the possibility of selection during selfing.

TABLE 1

Means and variances of mean yield of independent families of Lucerne in successive generations of self-fertilization. Two variances are significantly different at 0,05 when their ratio is greater than 1,4. (GALLAIS, unpublished results).

* S_0 families for trial 1 are independent single crosses between S_0 plants, and for trial 2 they are represented by a progeny from full sib mating in such single crosses.

		S_0 (*)	S_1	S_2	S_3
Trial 1	Means	100	69	41	25
	Variances	100	142	103	98
Trial 2	Means	87	56	36	—
	Variances	120	157	108	—

Effect on the means of crossing after selfing

a) Means of hybrid varieties.

A particularity of the autopolyploid state is that crossing after selfing does not restore the vigour of a non-inbred population (GUY, 1966 ; GALLAIS, 1968). The more inbred the parents, the weaker are the single-crosses. This conclusion, valid in the absence of selection, has been verified on Lucerne (table 2) and Cocksfoot. ROTILI (1974), with selection, observed only a small increase in the means of crosses ; so the inbreeding effect at the single-cross level can counterbalance the selection effect. As a consequence of that, for a given level of inbreeding of the parents : single crosses < three way crosses < double crosses. This was verified on Lucerne by DEMARLY (1964) and GUY (1966, 1970).

TABLE 2

Means and variances among crosses for yield in Lucerne according to the level of inbreeding of the parents, and expressed relative to $S_0 \times S_0$ (same material as in table 1, trial 1)

	$S_0 \times S_0$	$S_1 \times S_1$	$S_2 \times S_2$	$S_3 \times S_3$
Mean	100	93	85	73,2
Variance	100	150	140	—

b) Means of synthetic varieties.

We discuss here only the vigour of synthetics at equilibrium. However, as far as the vigour of advanced generations is concerned, we will only mention that it can increase when the parents are highly inbred, even with total crossing in Syn 1. (GALLAIS, 1971). Such a genetic trend can be modified by the effect of competition.

For the vigour at equilibrium, the general effect of the number of parents and their level of inbreeding is the same as for diploids. However if tetragenic interactions are important, the inbreeding effect of a low number of parents of high level of inbreeding will be greater than with interactions restricted to the first order. So, the number of parents must be greater in the first situation. Results from 21 synthetics (GALLAIS, 1974 *b*) show a good predictive value of the frequency of tetragenic associations for the vigour of Syn 1 and Syn 2. This supports the possibility of prediction of the value of synthetics according to parameters of the genetic structure.

Effect of inbreeding of the parents on the variance among varieties

a) Variance among crosses.

The originality of autopolyploids is the possibility for the variance among crosses to increase first and then to decrease with increasing level of inbreeding of the parents, when the variability is mainly due to tri-or tetragenic interactions (fig. 1). In such a situation, the specific combining ability variance cannot be demonstrated with highly inbred parents : this variance will be maximum at an optimum level of inbreeding of the parents.

Experimental results on Lucerne from ROTILI (1974) and GALLAIS (table 2) show a marked increase with the first one or two generations of self-fertilization and little or no further increase. So the interest of long inbreeding may be questioned.

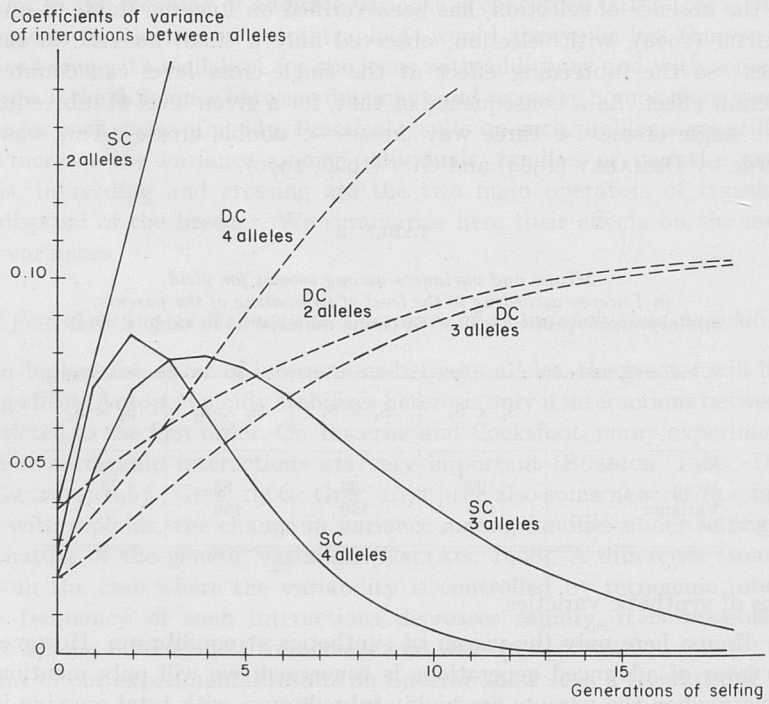


FIG. 1. — *Change of some cœfficients of variance among crosses* (double crosses = DC, single crosses = SC) with the number of generations of selfing of the parents.

b) Variance among synthetics.

For diploids the variance among synthetics with k parents ($k > 1$) can only increase with an increasing level of inbreeding of the parents. For autopolyploids, the situation is more complex. With $k \leqslant 4$ and variance if tri-and tetragenic interactions very important in comparison with additive and digenic variances, the variance among synthetics will increase first and then decrease. For a number of parents $k > 4$, increasing their level of inbreeding increases the coefficients of additive variance and of di-, tri-and tetragenic interaction variance. Relatively, the increase is greater for components associated with increasing order of interaction between genes. However the coefficients of additive and dominance variances are always very much greater.

Optimum base for a variety.

The genetic base of a variety can be represented by the number of independent (non identical by descent) genes at one locus, *i.e.*, the product of the number of parents and their level of heterozygosity.

For hybrids the level of inbreeding of the parents always decreases their means, and the number of parents always increases them. However the effect of such factors on the variance among crosses depends on the genetic effects. When the mean decreases and the variance increases or *vice-versa* an optimal genetic base may exist. The best variety may be expected at the single or double cross level (fig. 2). At the single cross level there may exist an optimum level of inbreeding of the parents. The double crosses will be particularly justified with strong tri-and tetragenic interactions and with a high level of inbreeding of the parents. This is very different from the diploid situation. We do not know of any experimental data showing the interest of double crosses versus single crosses.

For synthetics, the situation is very similar to that of diploids, for any number of parents, if the interactions between alleles are restricted to the first order, or whatever the interactions for $k > 4$. For $k < 4$, with strong tetragenic interactions, high inbreeding of the parents will be unfavorable. Some experimental results show that with unselected material, the optimum number of parents lies between 2 and 8. No result is known for the optimum level of inbreeding of the parents.

If hybrids and synthetics are compared at their optimal base, the best possible variety will be, as for diploids, a hybrid one, but not necessarily a single cross with highly inbred parents.

The prediction of the value of a variety.

Prediction formulae have been developed for hybrids and synthetics in diploids. Such formulae are not valid for autopolyploids. Restricting the interactions between alleles to the first order, we have established new formulae for autotetraploids (table 3) (GALLAIS, 1975 *a*).

For hybrids the efficiency of such formulae has not been verified. For synthetics some results of BUSBICE (1974) and GALLAIS (1974 *b*) show the efficiency of the prediction. From such predictors it is possible to deduce the varietal ability of a parent (WRIGHT, 1974) *i.e.* its average performance in k-parent synthetics, as a fonction of the value of its progeny by self-fertilization and of its general combining

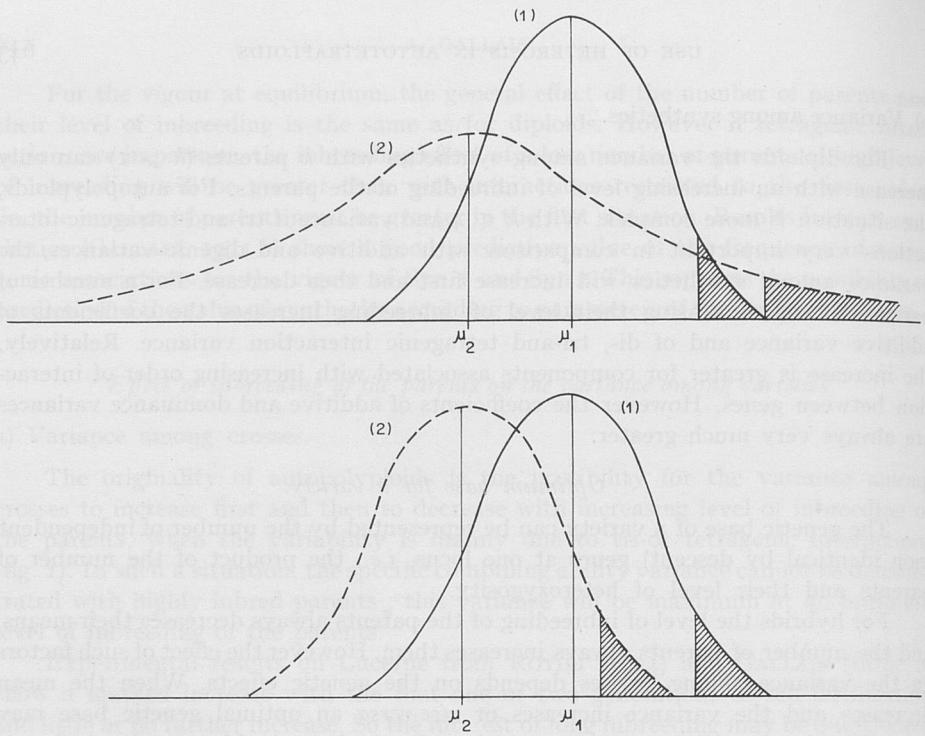


FIG. 2. — *Optimal base for hybrids*

(1) $S_0 \times S_0$ or double crosses } with the same parents
(2) $S_1 \times S_1$ or single crosses }

In the upper graph the mean of single crosses between inbred lines (2) is lower than the mean of single crosses with non inbred parents (1), but the variance among crosses is greater for (2) than for (1), so the best varieties may be found with an optimun level of inbreeding of the parents. In the lower graph the best varieties will have non inbred parents.

The same graphs can serve to discuss the choice between single (2) or double crosses (1), with parents of a given level of inbreeding. In the upper graph, the best variety will be at the single cross level, and in the lower graph at the double cross level. These graphs can also illustrate the problem of optimal base for synthetics.

TABLE 3

Predictors of different types of variety in autotetraploids with interactions between alleles restricted to the first order. $\overline{SC}_P(\overline{SC}_{NP})$ mean of parental (non parental) single crosses. $\overline{P}$ mean of the parents of SC_P. $\overline{C}$ mean of all crosses among the k parents, $\overline{P}_s$ mean of the progeny of the parent by self-fertilization.

Varieties	Predictors
Three way crosses	$1/6\ (\overline{SC}_P - \overline{P}) + \overline{SC}_{NP}$
Double crosses	$1/3\ (\overline{SC}_P - \overline{P}) + \overline{SC}_{NP}$
Synthetics	$\overline{C} + (1/2 - 3/2\ k)\ (\overline{C} - \overline{P}_s)$ (1)
	$\overline{C} - 3/2k\ (\overline{C} - \overline{P}_s)$ (2)

(1) Is an unbiased predictor for homozygous parents.
(2) Appears the less biased for non-inbred parents.

ability. For Cocksfoot, we have tested the efficiency of such an index to select the parents of a synthetic. It appears better than the general combining ability or than the value of the progeny by self fertilization (correlation between predicted and observed value of 0.79** instead of respectively 0.62** or 0.58**, all correlations being highly significant) (GALLAIS 1974 *b*).

CONCLUSION

It appears from this review, that the general rules for the use of heterosis in diploids apply for autopolyploids. The autopolyploids state only introduces some modifications in the modalities. For example : double-crosses may be better than single crosses, an optimum level of inbreeding may exist for single crosses, an increase of the vigour of a synthetic is possible in advanced generations with highly inbred parents. New prediction formulae have been developed for hybrids and synthetics and may be very useful for the breeder.

Such differences from the diploids have been established theoretically. Several predicted aspects have been experimentally verified. More theoretical and experimental work is needed and both appear very useful for the plant breeding theory of autopolyploid species.

Reçu pour publication en octobre 1975.

RÉSUMÉ

L'UTILISATION DE L'HÉTÉROSIS CHEZ LES PLANTES ALLOGAMES AUTOTÉTRAPLOÏDES AVEC QUELQUES APPLICATIONS RELATIVES A LA LUZERNE ET AU DACTYLE

Pour avoir la valeur maximale au niveau d'un type de variété, hybride ou synthétique, le sélectionneur doit améliorer sa population de départ et agir par les systèmes de reproduction et la sélection sur la moyenne et la variance entre variétés d'un type donné. Dans cet article, les particularités introduites par l'état autopolyploïde sont résumées.

Au niveau de l'amélioration des populations, il ne faudra pas utiliser des méthodes conduisant à recombiner des parents consanguins. Selon les interactions entre allèles, l'effet de la consanguinité peut être très fort chez les autopolyploïdes et la variance entre lignées n'augmentera pas toujours avec le degré de consanguinité. Des résultats théoriques connus sur l'influence de la consanguinité sur la moyenne et la variance entre variétés hybrides ou synthétiques sont rappelés. Des résultats expérimentaux sur Dactyle et Luzerne montrent l'intérêt de quelques générations d'autofécondation pour mieux utiliser l'hétérosis, mais une longue phase de consanguinité ne semble pas se justifier. La notion de base optimale d'une variété est discutée, et des formules de prévision de la valeur des variétés synthétiques, des hybrides trois voies et des hybrides doubles sont données pour les autotétraploïdes.

REFERENCES

BUSBICE T. H., WILSIE C. P., 1966. Inbreeding depression and heterosis in tetraploids with application to *Medicago sativa* L. *Euphytica*, **15**, 52-67.

BUSBICE T. H., GURGIS R. Y., 1974. Methods of breeding forage varieties based an the coefficient of inbreeding. *Proc. XII intern. Grassl. Cong.*, Moscow.

DEMARLY Y., 1964. Génétique des tétraploïdes et amélioration des Plantes. *Ann. Amélior. Plantes*, **13**, 307-400.

GALLAIS A., 1967. Moyenne des populations tétraploïdes. *Ann. Amélior. Plantes*, **17**, 215-228.

GALLAIS A., 1968. Étude théorique et comparée de la vigueur de différentes structures variétales chez les plantes allogames autotétraploïdes. *Ann. Amélior. Plantes*, **18**, 99-124.

GALLAIS A., 1969. Interactions between alleles and their variability in autotetraploid cross-fertilized plants. Consequences for selection. *Genetica Agr.*, **23**, 312-323.

GALLAIS A., GUY P., LENOBLE M., 1970. Models for varieties in cross fertilized plants. *Proc. XIth intern. Grassl. Cong.*, Australie, 254-259.

GALLAIS A., 1971. Nouvelle contribution à l'étude de l'évolution de la vigueur des variétés synthétiques tétraploïdes dans le cas de panmixie. *Ann. Amélior. Plantes*, **21**, 141-168.

GALLAIS A., 1971. Évolution de la vigueur des variétés synthétiques tétraploïdes au cours des générations de multiplication. II. Avec déviations par rapport à la panmixie : influence de l'autostérilité, cas particulier de la multiplication des hybrides. *Ann. Amélior. Plantes*, **21**, 303-336.

GALLAIS A., GUY P., 1971. Breeding for heterosis in autotetraploids. *Eucarpia Fodder Crops Section, Meeting*. Station d'Amélioration des Plantes fourragères, Lusignan, 15-16-17 septembre 1970. Report Ed. S.E.I. p. 105-118.

GALLAIS A., 1974 *a*. Selection among synthetics. *Theor. appl. Genet.*, **44**, 24-30.

GALLAIS A., 1974 *b*. Prediction of vigour and choice of parents for a synthetic variety. Application to Cocksfoot. *VIIth Congr. Eucarpia*. Budapest, 25-29 juin 1974.

GALLAIS A., 1975 *a*. Prévision de la vigueur et sélection des parents d'une variété synthétique. *Ann. Amélior. Plantes*, **25**, 233-264.

GALLAIS A., 1975 *b*. Selection with truncation in autotetraploids. Comparison with diploids. *Theor. appl. Genet.*, **46**, 387-394.

GUY P., 1966. Étude de l'évolution de quelques structures autotétraploïdes au cours des générations de multiplication. *XIe Congr. Soc. Ital. Genet. Agric.*, Perugia.

HILL R. R., Jr, 1971. Selection in autotetraploids. *Theor. appl. Genet.*, **41**, 181-186.

ROTILI P., ZANNONE L., 1974. General and specific combining ability in Lucerne at different levels of inbreeding and performance of second generation synthetics measured in competitive conditions. *Euphytica*, **23**, 569-577.

WRIGHT A. J., 1974. A genetic theory of general varietal ability for diploid crops. *Theor. appl. Genet.*, **45**, 163-169.

WRIGHT A. J., 1975. Phenotypic selection in autotetraploids. *Heredity*, **35**, 282-286.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (4), 647-653.

DOUBLEMENT DU STOCK CHROMOSOMIQUE D'HAPLOÏDES D'ASPERGE (*ASPARAGUS OFFICINALIS* L.) PAR CULTURE *IN VITRO* DES MÉRISTÈMES EN PRÉSENCE DE COLCHICINE

Claire DORÉ

avec la collaboration technique d'Anne-Marie TEISSEIRE

Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes,
Centre national de Recherches agronomiques, I. N. R. A.,
Route de Saint-Cyr,
78000 Versailles

RÉSUMÉ

Des méristèmes d'haploïdes d'Asperge issus de graines polyembryoniques dont le niveau de ploïdie reste stable malgré divers traitements *in vivo*, sont cultivés *in vitro* sur un milieu temporairement additionné de colchicine.

Cette technique se montre efficace dans certaines conditions pour obtenir des plantes diploïdes.

INTRODUCTION

L'utilisation des haploïdes, obtenus à partir de graines polyembryoniques, pour créer des lignées homozygotes en vue de la production d'hybrides F_1 d'Asperge (THÉVENIN, 1967 et 1968), suppose leur doublement chromosomique.

Cette étape s'est révélée difficile. La technique de l'immersion de fragments de griffes (1) dans une solution aqueuse de colchicine et aérée par barbotage (THÉVENIN, 1968) s'est montrée la plus efficace parmi les diverses techniques essayées. Une trentaine de sujets seulement ont cependant pu être diploïdisés parmi la centaine d'haploïdes trouvés et maintenus en vie depuis 1963 (THÉVENIN, 1971).

(1) Un fragment de griffe permet de donner une plante *in vivo*.

Mis à part le rôle joué directement par le génotype, on constate que chez l'Asperge haploïde adulte, le niveau de ploïdie est très stable. On éprouve beaucoup de difficultés à ébranler cet état lorsque l'on tente d'obtenir la diploïdisation par les procédés classiques : après traitement des griffes on remarque que, malgré la présence de quelques cellules diploïdes, l'état haploïde se rétablit peu à peu dans l'ensemble du matériel.

Un fragment de griffe représente en effet une grande masse (de 15 à 80 g) de tissus et d'organes dont chacun a atteint des états très variés de différenciation. Dès lors c'est peut-être dans cette hétérogénéité d'âge et d'activité, en particulier des méristèmes au moment du traitement mitoclasique que réside la cause des échecs. S'il en était ainsi, intervenir sur un matériel plus simple et plus homogène permettrait alors d'éviter la « dilution » et la perte des cellules diploïdes au milieu des nombreux massifs méristématiques peu actifs ou même inactifs lors du traitement et non touchés par celui-ci.

L'obtention de plantes à partir de petits fragments de végétal étant devenue possible grâce aux techniques nouvelles de culture *in vitro*, il était dès lors envisageable de traiter une quantité de matériel beaucoup plus faible et d'agir directement sur un organe isolé donc plus efficacement.

Des portions nodales (pesant 0,2 g environ) de tiges âgées d'haploïdes d'asperge, cultivées *in vitro* pendant quelques jours sur un milieu contenant de la colchicine initient des tiges dont les bourgeons contiennent une majorité de cellules diploïdes. Par contre, si on remplace la colchicine par des substances de croissance [1], les cellules restent haploïdes.

En 1975, la culture des méristèmes étant au point (DORÉ, 1975 *b*), nous avonsrepris le principe d'une culture *in vitro* sur un milieu additionné temporairement de colchicine, en traitant directement les méristèmes des plantes restées haploïdes.

Ceux-ci sont situés sous les écailles imbriquées, à l'extrémité d'un jeune turion, le poids de l'un d'eux est de l'ordre de 1 mg, son volume d'1 mm^3 environ. Un seul turion en renfermant quelques dizaines, il devient possible d'essayer plusieurs traitements différents en une seule fois. De plus, le prélèvement d'un turion sur une plante n'endommage pas celle-ci alors que le traitement *in vivo* d'un fragment de griffe n'était pas sans risque.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

Prélèvement du matériel végétal

L'expérience a concerné 19 plantes haploïdes (H_i), issues de graines polyembryoniques et n'ayant pu être diploïdisées par un traitement *in vivo*.

Les méristèmes sont prélevés sur de jeunes turions mesurant de 3 à 5 cm de long. Les plantes haploïdes produisant des tiges assez grêles, le nombre de méristèmes par turion est faible (de l'ordre de 30 à 60). Par ailleurs, compte tenu de l'état physiologique et de l'âge des plantes (com-

[1] L'action polyploïdisante de certaines substances de croissance semble en relation, chez l'Asperge, avec la présence d'un cal (CATELAND, 1972 ; LAMBERT, 1973).

pris entre 6 et 12 ans), un seul turion par génotype a pu être employé pour tous les traitements effectués.

Un effectif minimal de 9 méristèmes par traitement a été adopté. Le faible nombre de méristèmes disponibles n'a pas permis d'effectuer en général, tous les traitements pour chacun des génotypes.

Culture in vitro

Les méristèmes sont cultivés pendant plusieurs jours sur le milieu CM_1 déjà décrit (Doré, 1975 *b*), additionné de colchicine.

Deux concentrations différentes de colchicine Merck ont été essayées ($C_1 = 5 \times 10^{-5}$ et $C_2 = 1 \times 10^{-4}$) alors que les durées d'application sont de 1 à 6 jours (T_1, T_2, T_3, T_5, T_6). L'ensemble détermine 10 traitements différents possibles désignés par C_xT_y. Le témoin C_0T_0 est constitué de méristèmes cultivés dès le premier jour sur le milieu CM_1.

Les méristèmes traités sont ensuite transférés sur le milieu CM_1 seul et tous suivent alors les étapes habituelles de la culture de méristèmes (Thévenin et Doré, 1976) :

— 3 semaines de culture sur le milieu CM_1 seul ;
— repiquage des méristèmes sur le milieu CM_1 sans acide naphtalène acétique ;
— à 2 mois de culture, transfert des jeunes plantes dans le milieu T_0 liquide (Pelletier *et al.*, 1972) ;
— 1 mois après, repiquage en terre des jeunes plantes.

La culture *in vitro* est pratiquée dans une salle climatisée à 21-23°C, où l'éclairement reçu est de 2 000 lux, 16 heures sur 24.

Culture en terre

Le repiquage des plantes en terre est effectué dans des pots contenant un mélange sable-terreau (1 pour 2 en volume). Ces récipients placés dans une enceinte climatisée où l'humidité relative est de 80 p. 100, baignent dans une solution nutritive ; les plantes reçoivent un éclairement de 10 000 lux, 16 heures sur 24.

Vérification du nombre chromosomique

Le dénombrement chromosomique (1) est réalisé au stade jeune plante avant et (ou) après repiquage en terre, au niveau des bourgeons en cours de croissance. Il est répété quelques temps après pour vérification.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les méristèmes ont diversement réagi : certains ont formé des amas brunâtres d'aspect nécrosé et tératologique et n'ont finalement pas survécu ; d'autres n'ont émis que des racines filiformes ou au contraire que des tiges grêles. Pour d'autres enfin, le traitement ne semble avoir affecté ni le développement en jeunes plantes *in vitro*, ni leur reprise ultérieure en terre.

Le dénombrement chromosomique révèle que les plantes issues de méristèmes traités sont, ou haploïdes, ou diploïdes, ou polyploïdes. Les plantes issues des méristèmes témoins haploïdes non traités, sont toutes haploïdes.

Des doublements chromosomiques ont pu être obtenus au stade jeune plante *in vitro* pour 13 génotypes. Des plantes de 11 génotypes ont finalement franchi l'étape du repiquage en terre (fig. 1 et 2).

(1) Technique de coloration au Lackschwartz (Thévenin, 1968).

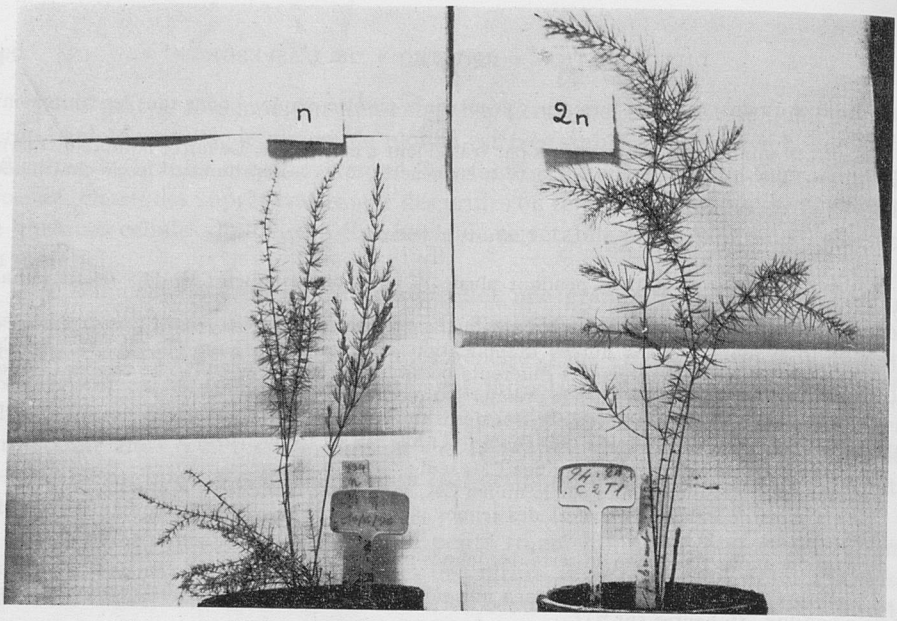


FIG. 1. — *Plantes issues de 2 méristèmes, prélevés sur l'haploïde n° 94 à la même date, traités* in vitro *par la colchicine*

Plants obtained from 2 meristems taken from haploid n° 94 at the same date, and treated in vitro *with colchicine*

à gauche : le méristème a évolué en donnant une plante haploïde malgré le traitement C_2T_1.
à droite : le méristème a évolué en donnant une plante diploïde, après le traitement C_2T_1.

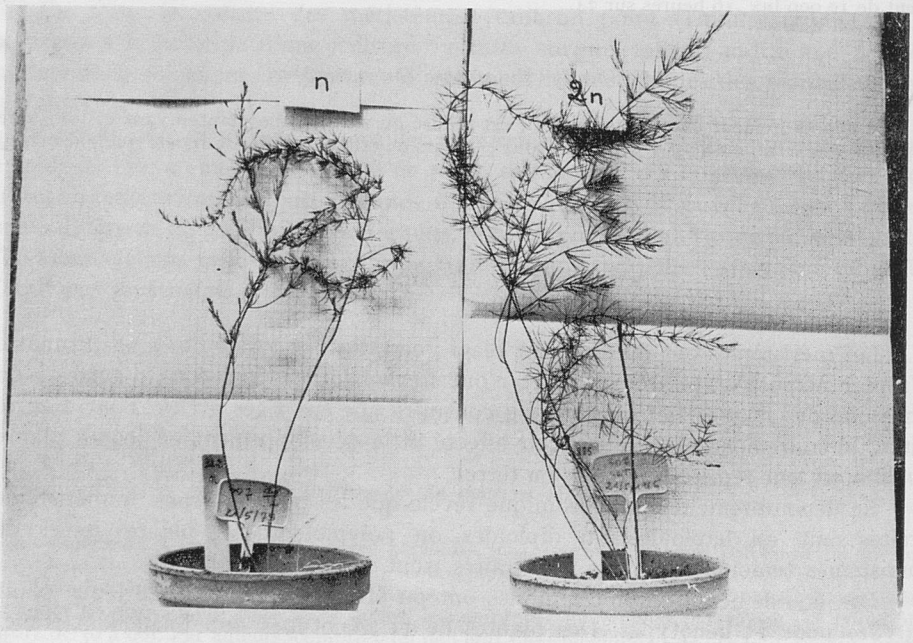


FIG. 2. — *Plantes issues de 2 méristèmes, prélevés sur l'haploïde n° 307 à la même date, traités* in vitro *par la colchicine*

Plants obtained from 2 meristems taken from haploid n° 307 at the same date, and treated in vitro *with colchicine*

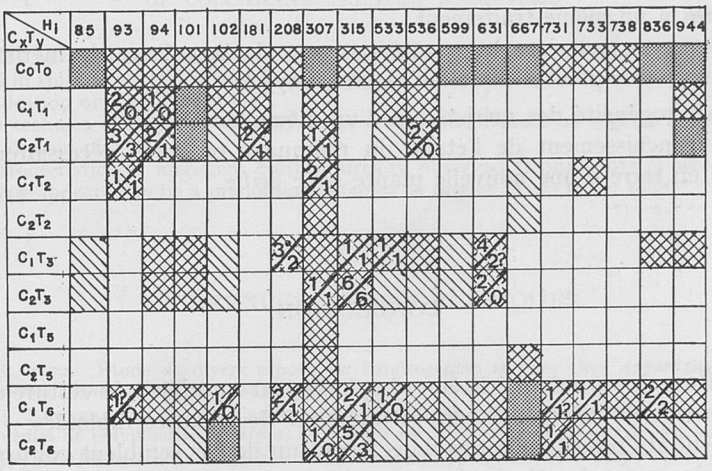
à gauche : le méristème a évolué en donnant une plante haploïde malgré le traitement C_1T_2.
à droite : le méristème a évolué en donnant une plante diploïde, après le traitement C_2T_3.

Les plantes obtenues sont étudiées notamment au point de vue de leur fertilité.

Le tableau I rassemble les résultats obtenus en fonction des traitement appliqués.

TABLEAU I

Résultats obtenus en fonction des traitements effectués



: Méristèmes n'ayant pas survécu après 2 mois de culture, par suite du traitement ou de contamination.

: Méristèmes ayant survécu, émettant des formations de types divers, souvent tératologiques, non repiquables en terre en général.

Méristèmes ayant donné des plantes repiquables en terre.

a) : Plantes diploïdes obtenues *in vitro*.
b) : Plantes diploïdes obtenues et transplantées avec succès.

• Le moment d'application du traitement à la colchicine a été différé de 3 jours.

H_i : Différents génotypes traités.

C_x : Différentes concentrations de colchicine employées.

T_y : Différentes durées d'application du traitement à la colchicine.

Ce tableau montre notamment que le traitement C_xT_y favorable au doublement du nombre chromosomique varie d'un haploïde à l'autre. Ceci confirme le rôle joué par le génotype, déjà mis en évidence au cours de traitements *in vivo* (THÉVENIN, 1968). Il sera donc nécessaire pour chaque nouveau génotype à traiter d'essayer les diverses combinaisons entre la durée d'application et la concentration de la colchicine.

Par ailleurs, on peut remarquer que les méristèmes d'un même turion ayant subi le même traitement C_xT_y ne réagissent pas toujours tous de la même façon. Par exemple, les 9 méristèmes de l'haploïde 93 ayant subi le traitement C_2 T_1 ont évolué comme suit :

— un méristème a donné 1 plante haploïde,
— un méristème a donné 1 plante mixoploïde (n — $2n$),

— trois méristèmes ont donné 3 plantes diploïdes, une d'entre elles n'a pas franchi l'étape du repiquage en terre,

— deux méristèmes ont donné 2 plantes polyploïdes et n'ont pas survécu au repiquage en terre,

— pour 2 autres qui n'ont pas survécu au repiquage en terre le comptage chromosomique n'a pas été possible.

Cet exemple montre notamment que certains méristèmes sont plus réceptifs que d'autres à un même traitement.

En outre, on retrouve les caractéristiques de la culture de méristèmes déjà observées chez des plantes diploïdes (DORÉ, 1975 *b*) :

— l'hétérogénéité des méristèmes d'un même turion,

— le franchissement de l'étape du repiquage en terre nécessairement lié à l'initiation en terre d'une nouvelle plante avec griffe.

CONCLUSION

La culture *in vitro* de méristèmes haploïdes sur un milieu de culture additionné temporairement de colchicine permet d'obtenir des plantes diploïdes.

Les résultats positifs obtenus dans beaucoup de cas semblent confirmer le fait qu'indépendamment du rôle joué par le génotype (il n'y a pas de traitement C_xT_y polyvalent), un des obstacles au doublement du stock chromosomique des haploïdes résultait de la quantité de matériel à traiter et de l'âge des tissus. La culture *in vitro*, en permettant d'isoler un fragment minuscule de végétal, supprime cet obstacle.

Cette technique présente divers avantages :

— elle est rapide ; elle requiert moins d'un an entre la mise en culture du méristème et la floraison de la plante formée, c'est-à-dire un laps de temps égal à celui qui est nécessaire dans le cas de la culture d'un méristème diploïde ;

— elle nécessite très peu de colchicine : dans une boîte de Petri contenant 30 ml de milieu de culture, soit 1,5 ou 3×10^{-6} g de colchicine, on peut traiter une vingtaine de méristèmes ;

— elle permet de rajeunir le matériel végétal tout en offrant la possibilité de le cloner ;

— enfin, les plantes obtenues par ce moyen *in vitro* mais restées haploïdes malgré le traitement mitoclasique peuvent encore être traitées *in vivo*.

Cette technique peut être également utilisée pour doubler le stock chromosomique des haploïdes mâles et femelles issus de culture d'anthères *in vitro*, dans le cas où ils ne se sont pas diploïdisés spontanément au stade cal (PELLETIER *et al.*, 1972 ; DORÉ, 1975 *b*).

Un nombre important de génotypes, inutilisés car « bloqués » au niveau haploïde devient exploitable. Aussi le doublement du stock chromosomique de toute la collection d'haploïdes est-il entrepris grâce à cette méthode.

Reçu pour publication en mars 1976.

SUMMARY

CHROMOSOME DOUBLING OF ASPARAGUS (*ASPARAGUS OFFICINALIS*) HAPLOIDS BY *IN VITRO* CULTURE OF COLCHICINE TREATED MERISTEMS

Meristems of Asparagus haploids originating from polyembryonic seeds and still at the haploid level in spite of several *in vivo* treatments, were grown *in vitro* on a culture medium with temporary addition of colchicine.

In vitro technics allowing to directly treat a very small piece of vegetal appears efficient in obtaining diploid plants.

The characteristics of meristem culture already observed (Doré, 1975 *b*) were confirmed while genotype appeared to be a predominant factor as *in vivo* (Thévenin, 1968).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Cateland B., 1972. Étude de divers aspects de l'androgenèse *in vitro* chez *Asparagus officinalis* L. *D.E.A. Amelior. Plantes, Fac. Sci. Orsay*, 47 p.

Cateland B., Lambert A., 1973. L'androgenèse *in vitro* par culture d'anthères d'*Asparagus officinalis* L. II. Problèmes de polyploïdie. *Eucarpia, 4e réunion sur la sélection de l'Asperge*, Versailles, 183-189.

Doré C., 1975 *a*. Utilisation de la culture *in vitro* chez l'Asperge cultivée (*Asparagus officinalis* L.) : création d'hybrides F_1 à partir de plantes produites par androgenèse, et multiplication clonale par bouturage. *Thèse de 3e cycle. Univers. Paris-Sud, Orsay*, 68 p.

Doré C., 1975 *b*. La multiplication clonale de l'Asperge (*Asparagus officinalis* L.) par culture *in vitro* : son utilisation en sélection. *Ann. Amélior. Plantes*, **25** (2), 201-224.

Eigsti O. J., Dustin P., 1955. *Colchicine*. Iowa State College Press, 470 p.

Lambert A., 1973. L'instabilité caryotypique des tissus d'Asperge (*Asparagus officinalis* L.) cultivés *in vitro*. *D.E.A. Amélior. Plantes, Fac. Sci. Orsay*, 79 p.

Pelletier G., Raquin C., Simon G., 1972. La culture *in vitro* d'anthères d'Asperge (*Asparagus officinalis* L.). *C.R. Acad. Sci.*, Paris, série D, **274** (6), 848-851.

Thévenin L., 1967. Les problèmes d'amélioration chez *Asparagus officinalis* L. I. Biologie et amélioration. *Ann. Amélior. Plantes*, **17** (1), 33-66.

Thévenin L., 1968. Les problèmes d'amélioration chez *Asparagus officinalis* L. II. Haploïdie et amélioration. *Ann. Amélior. Plantes*, **18** (4), 327-365.

Thévenin L., Doré C., 1976. L'amélioration de l'Asperge (*Asparagus officinalis* L.) et son atout majeur : la culture *in vitro*. *Ann. Amélior. Plantes*, **26** (4), 655-674.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (4), 655-674.

L'AMÉLIORATION DE L'ASPERGE (*ASPARAGUS OFFICINALIS* L.) ET SON ATOUT MAJEUR, LA CULTURE *IN VITRO*

Lucette THÉVENIN et Claire DORÉ
avec la collaboration technique de G. TEISSEIRE, G. VAN BORREN, Anne-Marie TEISSEIRE et A. PASCAL

Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes, Centre national de Recherches agronomiques, I. N. R. A., Route de Saint-Cyr, 78000 Versailles

RÉSUMÉ

Le programme d'amélioration de l'Asperge est grandement aidé depuis 1973 par la culture *in vitro* :

— Dans un premier temps, la création d'« hybrides doubles » a permis, à partir de 2 couples de plantes, de diffuser un matériel agronomiquement intéressant mais *hétérogène*.

La culture *in vitro* de méristèmes aboutit maintenant à la diffusion d'« hybrides de clones » réalisés à partir d'un seul couple.

— Dans un deuxième temps, l'utilisation de l'haploïdie a permis de créer des lignées homozygotes entre lesquelles sont réalisés des « hybrides F_1 » *homogènes*. Les premiers haploïdes d'origine polyembryonique (qui ont abouti à la création de F_1 commercialisables) présentent de nombreux inconvénients (difficultés de diploïdisation, sexe toujours femelle).

Par culture *in vitro* on peut maintenant :

— à partir de méristèmes, diploïdiser facilement les haploïdes ;

— à partir d'anthères, obtenir des haploïdes qui se diploïdisent spontanément et donnent soit des femelles, soit des supermâles ; les supermâles permettent d'obtenir des F_1 entièrement composés de plantes mâles.

La culture *in vitro* qui apporte des solutions dans trois étapes du travail, revêt désormais une importance capitale pour l'amélioration de l'Asperge.

INTRODUCTION

L'Asperge est une espèce traditionnellement cultivée à partir de populations issues de sélection massale plus ou moins rigoureuse. Très peu de sélectionneurs s'y intéressent. Le programme d'amélioration de l'Asperge entrepris à l'INRA, qui s'est

attaché à innover dans le domaine des méthodes et des techniques, seule voie d'une sélection rationnelle de cette espèce, a pour principal objectif la création d'un matériel végétal susceptible d'accroître la productivité des plantations. Il tient également compte de la précocité des récoltes, du calibre et de la présentation des turions, qui sont des facteurs déterminants de la valeur commerciale du produit.

En raison de la biologie particulière de l'Asperge (THÉVENIN, 1967), les travaux ont été orientés dans deux directions :

— l'une est destinée à aboutir assez rapidement à l'obtention d'un matériel à haut rendement, satisfaisant par sa précocité et la présentation de ses turions, mais encore hétérogène ; cette orientation peut être dite « à court terme » ;

— l'autre, plus élaborée et exigeant des délais plus longs, met au point un matériel homogène parce que génétiquement uniforme, répondant en outre aux mêmes critères (rendement, précocité et qualité) ; on peut la qualifier d'orientation « à long terme ».

Chacun de ces deux programmes s'est heurté, à diverses étapes de son déroulement, à des difficultés très sérieuses qui ont, en général, pu être tournées mais qui n'ont réellement pu être surmontées que quelques années plus tard grâce à l'apport des différentes formes de la culture *in vitro*. Celles-ci ont, dès lors, joué un rôle capital dans la progression du travail d'amélioration de l'Asperge, rôle que nous nous proposons ici de mettre en évidence.

I. — LE PROGRAMME A COURT TERME

1. 1. — *Principe*

On a recherché des plantes (mâles et femelles) présentant des caractères agronomiques intéressants (par exemple une forte productivité) et éprouvé leur aptitude spécifique à la combinaison afin de trouver des hybrides supérieurs aux populations traditionnelles.

1. 2. — *Matériel*

Dans un champ d'essai comparatif implanté en Sologne en 1956, 12 populations d'origines diverses ont fait l'objet pendant plusieurs années, d'observations plante par plante (BANNEROT *et al.*, 1969). Une centaine de plantes, mâles et femelles, appartenant essentiellement aux populations n° 6, 8 et 10 [1] ont été repérées pour leur valeur agronomique. Les descendances d'une centaine de couples ont été plantées entre 1961 et 1966, récoltées pendant 5 à 7 ans selon le cas et comparées pour leur productivité, à des populations commerciales servant de témoins.

1. 3. — *Premiers résultats*

Une vingtaine de croisements ont donné des descendances dont le rendement a régulièrement été supérieur aux témoins et le plus souvent de façon hautement significative (tabl. 1).

[1] n° 6 = « Mammoth Emperor » (Angleterre),
n° 8 = « La Monstrueuse » (France),
n° 10 = « Racault-Vallières » (France).

TABLEAU I

Rendement des meilleurs croisements réalisés entre 2 plantes, exprimé en p. 100 du rendement du témoin commercial
Récoltes par année

Annual yield of the best crosses between two plants, expressed as a percentage of the yield of the commercial check

N° des croisements	Année de récolte							Total
	1re	2e	3e	4e	5e	6e	7e	
63	426*	271*	248*	266*	277*	207*	194*	233*
52	400*	223*	229*	237*	210*	205*	201*	219*
59	359*	250*	191*	164*	167*	174*	151*	179*
48	338*	169*	190*	197*	147*	140*	138*	164*
18	334*	253*	276*	223*	163*	150*	133	190*
73	332*	189*	185*	181*	168*	144*	131	165*
51	328*	226*	211*	192*	195*	197*	185*	201*
22	302*	224*	198*	156*	124*	113	96	143*
53	285*	242*	217*	241*	192*	—	—	221*
57	285*	150*	145*	157*	147*	140*	135*	148*
58	279*	170*	173*	138*	160*	—	—	163*
39	246*	192*	181*	167*	170*	174*	151*	172*
46	240*	123	145*	149*	144*	152*	136*	147*
79	240*	186*	158*	146*	139*	134*	122	144*
67	236*	188*	159*	167*	128	104	97	134*
49	234*	144	153*	164*	139*	130	127	143*
76	234*	200*	192*	192*	180*	189*	191*	191*
Rendement du témoin commercial (kg/10 m²)	0,49	1,70	2,91	3,36	4,37	4,25	4,75	21,83

Les astérisques indiquent une différence avec le témoin significative au moins au seuil 0,05.

Tenant compte, par ailleurs, de la précocité et de la présentation des turions produits par leurs descendants, six de ces croisements ont été retenus dès 1968 pour être diffusés.

Cette diffusion ne pouvait être assurée que dans la mesure où la production de quantités suffisantes de semences était possible.

Si l'on estime à environ 3 000 ha les superficies annuellement plantées en France pour renouveler tous les 10 ans 25 000 à 30 000 ha de plantations, on peut évaluer les besoins annuels à 36×10^6 griffes. Le coefficient de multiplication par voie sexuée étant, chez l'Asperge, de quelques milliers, on constate que 10 000 plantes porte-graines suffisent pour couvrir tous les besoins en semences de notre pays.

Or, nous ne disposons au départ que d'un couple d'individus pour produire chaque hybride.

En 1968, il n'existait aucun moyen de multiplier végétativement, à grande échelle, les géniteurs participant aux combinaisons les plus intéressantes :

— l'éclatement des griffes offre des possibilités très limitées ;
— la culture *in vitro* de tissus somatiques était loin d'être au point.

En l'absence de toute possibilité de multiplication clonale des parents, la diffusion commerciale des croisements retenus se trouvait compromise.

La création d'hybrides « doubles » a permis d'apporter une solution provisoire à cette difficulté.

1. 4. — *Les hybrides « doubles »*

1. 4.1. *Principe.*

Pour obtenir des quantités suffisantes de semences, il était tentant de s'inspirer des méthodes utilisées chez le Maïs. Le principe de production des hybrides doubles chez cette espèce monoïque (JONES, 1918), transposé à une espèce dioïque, aboutit à la mise en œuvre de deux couples de plantes ♀ A et ♂ B, ♀ C et ♂ D, choisis chacun pour la valeur agronomique de leurs descendants observée dans les essais antérieurs. On établit une production de semences à partir des parents de ces deux couples, en ayant soin de les intervertir (fig. 1) ; les descendants des croisements ♀ A × ♂ D et ♀ C × ♂ B sont utilisés dans un champ de porte-graines où ils sont implantés après sexage (1) et où ils produisent des semences de l'hybride AD × CB (ou CB × AD selon le sens choisi) qui sont appelés hybrides « doubles ».

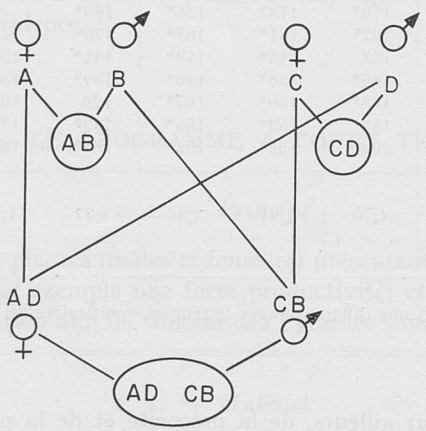


FIG. 1. — *Schéma de constitution d'un hybride dit « double »*

Diagram of the structure of a so-called double-hybrid

L'analogie avec le Maïs n'est que partielle puisque les hybrides doubles d'Asperge sont produits à partir de 4 plantes (2 mâles et 2 femelles) hétérozygotes, alors que les hybrides doubles de Maïs ont pour parents 4 lignées homozygotes. Néanmoins, chez l'Asperge, les hybrides doubles AD × CB ou CB × AD doivent présenter, comme chez le Maïs, une grande hétérogénéité et des caractéristiques (productivité, précocité, etc.) proches de celles de AB et de CD, leurs hybrides « composants ».

(1) Seules doivent intervenir les plantes femelles de l'hybride choisi pour mère et les plantes mâles de l'hybride choisi pour père, ce qui nécessite préalablement à toute utilisation :
1° la détermination du sexe de toutes les plantes ;
2° l'élimination des plantes de sexe « indésirable ».
L'ensemble de ces opérations constitue le « sexage » des hybrides.

Une expérience conduite depuis 1971 montre qu'il en est bien ainsi (THÉVENIN, 1972-1974) : les hybrides doubles sont, au minimum, équivalents au moins bon de leurs deux composants.

L'ensemble des 2 hybrides composants (A × B et C × D), des 2 hybrides parentaux (A × D et C × B) et des 2 hybrides doubles (AD × CB et CB × AD) constitue ce que l'on peut appeler une « famille ».

1. 4.2. *Résultats.*

Entre 1968 et 1971, nous avons mis en essais une douzaine d'hybrides doubles (ayant parfois des parents ou des composants communs). Ce travail a abouti, depuis 1974, à la diffusion de 4 d'entre eux (significativement plus productifs et plus précoces que les témoins) qui ont été dénommés « Diane », « Junon », « Minerve » et « Lara ».

La figure 2 représente les récoltes précoces effectuées sur la « famille » de « Minerve » ; on peut y observer l'aspect des turions de chaque lot et la précocité de chacun des croisements.

Les hybrides doubles ne représentent, cependant, qu'une solution transitoire par rapport au matériel initialement recherché car ils sont, le plus souvent, inférieurs, au moins pour l'un des caractères importants au meilleur de leurs deux hybrides composants, et plus hétérogènes ; d'autre part, le sexage obligatoire des hybrides parentaux avant leur utilisation dans le champ de porte-graines est un inconvénient non négligeable.

1. 5. — *Les hybrides de clones*

L'utilisation directe, à l'échelle commerciale, d'hybrides entre 2 plantes demeure la solution la plus intéressante.

Les techniques de multiplication végétative *in vitro* par culture de méristèmes et bouturage la rendent désormais possible (DORÉ, 1975 *b*).

Les géniteurs à cloner étant des plantes âgées (la plupart ont plus de 10 ans), la culture de méristèmes est pratiquée systématiquement. Lorsque la reprise en terre est difficile, le bouturage des tiges jeunes issues de ces méristèmes permet de parvenir rapidement à l'effectif souhaité.

A l'époque où les meilleurs croisements entre 2 plantes ont été remarqués, il aurait été logique de diffuser la plupart d'entre eux si les techniques de multiplication *in vitro* des parents l'avaient permis. Actuellement, il n'apparaît plus nécessaire de multiplier *in vitro* la totalité des géniteurs des croisements figurant au tableau 1, car beaucoup d'hybrides composants intéressants ont déjà été exploités dans les hybrides doubles. Néanmoins, il a paru utile de diffuser le plus rapidement possible sous le nom d'hybrides de clones quelques croisements, dont la valeur a été reconnue et qui n'ont pas encore été utilisés ou qui offrent de grandes facilités de réalisation : en clonant quelques géniteurs femelles et un mâle unique, on peut en effet produire les semences d'autant d'hybrides différents qu'il y a de clones femelles ; cette production se fait dans un même champ utilisant un seul isolement géographique (fig. 3) (l'isolement géographique pose souvent, en France, un problème délicat, le pollen étant transporté par des bourdons) ; aucun sexage préalable des individus n'est nécessaire.

La première diffusion de semences de tels hybrides de clones aura lieu en 1977.

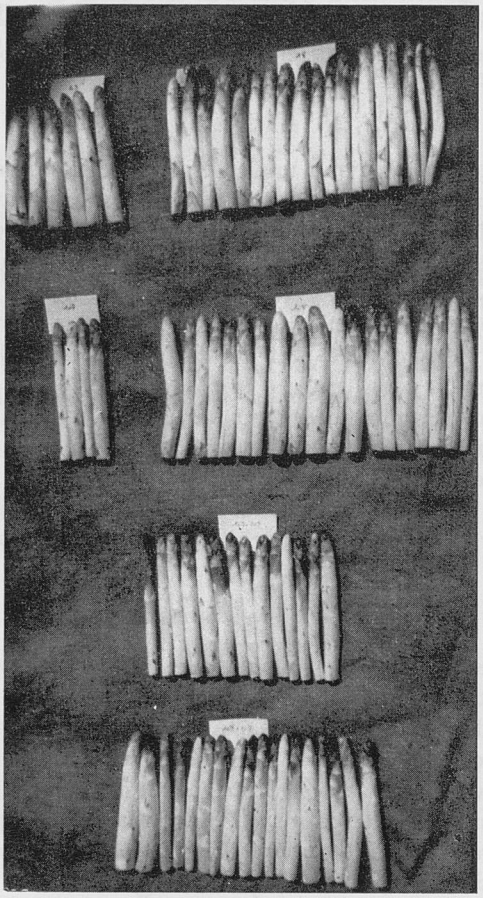


FIG. 2. — « *Famille* de « *Minerve* ». *Récoltes précoces* (aspect (1) et quantité (2))

« *Family* » *of* « *Minerve* ». *Early crop* (shape and quantity)

1re ligne : 2 hybrides composants { à gauche nº 63 / à droite nº 18

2e ligne : 2 hybrides parents { à gauche nº 107 / à droite nº 108

En bas : 2 hybrides doubles { 3e ligne nº 107 × 108 : « Minerve » / 4e ligne nº 108 × 107 : réciproque de « Minerve »

(1) Les turions figurant sur ce cliché ont été choisis pour représenter un échantillon moyen de l'*aspect* des récoltes.

(2) Les *quantités* de turions disposés sur la photo sont proportionnelles pour chaque hybride aux quantités totales récoltées au cours des 4 premières cueillettes de la saison (on remarque la précocité du « composant » nº 18 et du « parent » nº 108).

FIG. 3. — *Champ de porte-graines d'hybrides de clones*

Field of clone-hybrid seed-bearers

Les jeunes plantes proviennent de méristèmes des géniteurs (1 mâle et plusieurs femelles) cultivés *in vitro*

1. 6. — *Perspectives*

La multiplication végétative *in vitro,* malgré les progrès accomplis, reste une technique délicate et coûteuse. Aussi, contrairement à une opinion couramment répandue, ne saurait-elle, en l'état actuel de nos connaissances, être utilisée pour produire des plantes destinées à l'implantation et l'exploitation d'aspergeraies commerciales.

Par contre, c'est la mise au point de cette technique qui a permis la production commerciale des semences d'hybrides de clones, ultime étape du programme à court terme. A ce titre, la multiplication végétative *in vitro* constitue l'un des facteurs essentiels du succès de ce programme.

2. — LE PROGRAMME A LONG TERME

2. 1. — *Rappel du programme*

La création d'un matériel homogène rendue difficile chez l'Asperge en raison de la dioécie de l'espèce, a néanmoins été entreprise depuis 1963 (THÉVENIN, 1968).

Les étapes parcourues ont été :

— obtention de lignées homozygotes à partir d'individus haploïdes ;
— réalisation d'hybrides F_1 entre ces lignées pour l'expérimentation ;
— appréciation de la valeur agronomique des hybrides F_1 ;
— production à l'échelle commerciale des semences d'hybrides F_1 les plus intéressants.

2. 2. — *Obtention de lignées homozygotes à partir d'individus haploïdes*

2. 2.1. *Recherche d'haploïdes parmi les graines polyembryoniques.*

Au total, la collection d'haploïdes trouvés et maintenus en vie a atteint en 1970 l'effectif maximal de 131 individus, pour retomber à une centaine en 1976.

2. 2.2. *Doublement du stock chromosomique chez les haploïdes d'origine polyembryonique.*

2. 2.2.1. *Techniques de traitements* in vivo.

Les difficultés déjà signalées (THÉVENIN, 1968) ont persisté : chaque génotype répond différemment aux traitements mitoclasiques et il semble que, pour un même génotype, le stade physiologique où se trouve le fragment de griffe traité intervienne également.

Sur plus de 100 traitements différents essayés (à base de colchicine ou de N_2O), celui qui a le plus fréquemment provoqué l'apparition de cellules diploïdes dans les turions émis ultérieurement, est l'immersion pendant 24 heures dans une solution de colchicine Merck à 0,25 p. 100 (aérée par barbotage), maintenue entre 20 et 25°C. Ce traitement est appliqué à des fragments de griffes (portant encore leurs tiges), sous une hygrométrie ambiante de 70 à 80 p. 100. Toutefois, on ne peut le considérer comme satisfaisant car il n'entraîne pas forcément, chez les individus devenus mixoploïdes, la disparition des tissus haploïdes au profit des tissus diploïdes : la stabilité de l'état haploïde chez certains individus, déjà signalée *in vivo* (THÉVENIN, 1968) s'est confirmée.

2. 2.2.2. *Résultats des traitements* in vivo.

Les efforts sont poursuivis pour parvenir à diploïdiser tous les haploïdes de la collection.

Des plantes diploïdes de 29 génotypes différents ont pu être obtenues et utilisées comme matériel de départ pour l'obtention de lignées homozygotes.

Sur une collection comptant plus de 100 haploïdes, le bilan est mince si l'on tient compte du travail considérable que représentent tous les traitements vainement pratiqués, du temps consacré à ces efforts et du coût élevé de la colchicine manipulée en volumes importants (de l'ordre de 2 à 3 litres) de solutions relativement concentrées.

Ici encore, il est certain que les obstacles rencontrés n'ont pu être que partiellement vaincus par les méthodes classiques.

2. 2.2.3. *Traitements* in vitro.

C'est pourquoi, encouragées par les résultats récemment obtenus, nous avons entrepris à partir de 1975 des essais de diploïdisation en cultivant *in vitro* les méristèmes des haploïdes sur un milieu temporairement additionné de colchicine (DORÉ, 1976).

Cette technique s'est révélée efficace sur des haploïdes dont le stock chromosomique n'avait pu être doublé *in vivo ;* 11 haploïdes, parmi les 19 traités jusqu'à présent, ont pu ainsi être rapidement diploïdisés dans le délai habituellement requis pour parvenir à une plante à partir d'un méristème cultivé *in vitro* et en utilisant très peu de colchicine.

Le problème de la diploïdisation des haploïdes qui a pendant longtemps entravé l'avancement de notre programme paraît donc désormais en voie de résolution grâce à la culture *in vitro.*

2. 2.3. *Élaboration de lignées homozygotes.*

Obtenir une plante homozygote à partir d'un haploïde ne suffit pas lorsque l'objectif est la création d'une lignée fixée, susceptible de multiplication sexuée. La dioécie de l'Asperge entraîne en effet dans notre programme diverses complications, prévues au départ, mais qui appellent quelques éclaircissements. Les modalités de détermination et de transmission du sexe et de l'état bisexué ont fait l'objet de nombreuses études ; les publications qui en résultent ne paraissent pas toujours concorder ca certains auteurs tiennent compte de la morpholoige des fleurs plutôt que de leurs aptitudes fonctionnelles.

Nous co idérerons ici le sexe sous son aspect fonctionnel et ne rappellerons, à propos de son déterminisme, que les conclusions les plus généralement admises et nécessaires à la compréhension du travail.

2. 2.3.1. *Rappel de quelques conclusions généralement admises sur le déterminisme du sexe.*

La base génétique du sexe peut être symbolisée par *Mm* pour une plante mâle et *mm* pour une plante femelle (les populations courantes comptent à peu près autant de mâles que de femelles).

Certains individus (exceptionnels) portent des étamines et sont, en même temps capables de produire des graines ; leur intérêt agronomique est douteux mais ils s'autoféconden naturellement ; ces « bisexués », donnant par autofécondation 75 p. 100 de plantes staminées et 25 p. 100 de femelles, peuvent être considérés comme *Mm* (la présence de *M* n'empêchant pas celle d'un pistil fonctionnel) ; leurs descendants staminés sont phénotypiquement identiques, mais, si on les utilise pour polliniser des plantes femelles, l'examen des descendances permet de vérifier que les uns sont *MM* et les autres *Mm*, dans les proportions 1-2.

Les individus *MM* sont parfaitement viables, qu'ils résultent d'autofécondation de bisexués, ou de diploïdisation d'haploïdes *M* ; ils peuvent être eux-mêmes bisexués ou non ; il peut être commode de les distinguer des *Mm* en les appelant « supermâles ». Par croisement avec une femelle quelconque ils donnent une descendance entièrement composée de plantes *Mm*, toutes staminées, et qui peuvent être bisexuées ou mâles selon l'origine de la plante père *MM* et les conditions de milieu ; la présence d'un pistil fonctionnel chez un individu staminé est donc sous la dépendance d'autres facteurs.

Dans les plantations, les plantes mâles produisent généralement davantage et plus précocement que les plantes femelles, d'où l'intérêt des géniteurs *MM* pour la production de descendances entièrement mâles ; la supériorité des mâles peut avoir des raisons génétiques (présence de *M*) ou métaboliques (non production de graines par les mâles) ou les deux à la fois (question actuellement à l'étude), ce qui peut conférer un intérêt différent à un géniteur supermâle, selon son origine et son aptitude à transmettre des facteurs de bisexualité.

2. 2.3.2. *Sexe des haploïdes et des homozygotes d'origine polyembryonique.*

En raison du déterminisme génétique du sexe, exposé plus haut, on ne peut obtenir d'haploïdes mâles qu'à partir des plantes bisexuées *Mm* ou *MM*, ou par androgenèse *in vivo*.

C'est ce que confirme l'observation :

— parmi les plantes homozygotes, on a obtenu 21 femelles et 2 staminées qui proviennent d'haploïdes issus l'un de bisexué, l'autre d'un lot de graines incontrôlé ;

— parmi les plantes haploïdes qui n'ont pas encore pu être diploïdisées, 19 ont produit, à diverses reprises, des fleurs : 16 plantes sont femelles, 3 sont staminées. Parmi, ces dernières, l'une seulement a une origine bisexuée (1) ; les 2 autres proviennent de graines polyembryoniques récoltées sur des plantes femelles, ce qui rend vraisemblable l'androgenèse *in vivo*. Ces 2 plantes n'ont malheureusement vécu que peu de temps après leur floraison et aucun pollen n'a pu être extrait des étamines.

Les haploïdes femelles sont pollinisés lors de chaque floraison, par du pollen de plante diploïde. Leur fertilité varie avec chaque génotype, mais est, de toute façon, très faible ; les descendants sont diploïdes et ont une fertilité normale.

2. 2.3.3. *Rétrocroisements.*

Le schéma de création de véritables lignées reproductibles par voie sexuée à partir d'individus homozygotes femelles a déjà été exposé (THÉVENIN, 1968). Une succession de rétrocroisements dont le parent femelle constant est la femelle homozygote, aboutit après le 5e rétrocroisement à l'obtention d'un mâle que l'on peut considérer comme sensiblement isogénique de la femelle homozygote récurrente. Ce couple isogénique permet d'entretenir la lignée.

Ce programme a été appliqué systématiquement, au fur et à mesure des diploïdisations, sur tous les génotypes possibles. Les délais ont parfois été plus longs que prévus pour aboutir à la lignée finale, en raison de la fertilité souvent faible de certaines femelles homozygotes et de celle du descendant mâle, qui va s'amenuisant avec le niveau d'hétérozygotie à chaque génération de rétrocroisement (la floraison des derniers rétrocroisements est souvent tardive).

Lorsque les traitements diploïdisants sont restés sans effet, le programme de rétrocroisements peut néanmoins être appliqué directement sur les plantes haploïdes qui se montrent fertiles ; puisque les descendants du premier croisement sont, on l'a vu, diploïdes et normalement fertiles, rien ne s'oppose à ce que chaque floraison de la femelle haploïde soit mise à profit pour faire progresser l'élaboration de la lignée correspondante.

Les figures 4 et 5 récapitulent le déroulement du programme de rétrocroisements respectivement sur les homozygotes et sur les haploïdes, et donnent une idée des délais considérables qui s'écoulent inévitablement entre la diploïdisation (ou l'utilisation directe) d'un haploïde et l'élaboration de la lignée correspondante.

2. 2.3.4. *Résultats.*

Neuf lignées sont actuellement en cours de multiplication sexuée, 2 autres le seront en 1976, d'autres viendront ensuite (chaque multiplication se fait dans un compartiment isolé où est placée une ruche en activité).

Le matériel créé présente une grande souplesse d'utilisation puisqu'il est fixé, aisément reproductible en quantité illimitée par voie sexuée et qu'il peut être, sans problème, utilisé en croisements aussi bien sous forme mâle que sous forme femelle (après sexage des griffes).

(1) Cet haploïde faisait partie d'un couple dont l'autre partenaire était également haploïde mais femelle, ce qui implique, dans ce cas, la présence simultanée de 2 sacs embryonnaires dans le même ovule et la stimulation de l'un par l'autre.

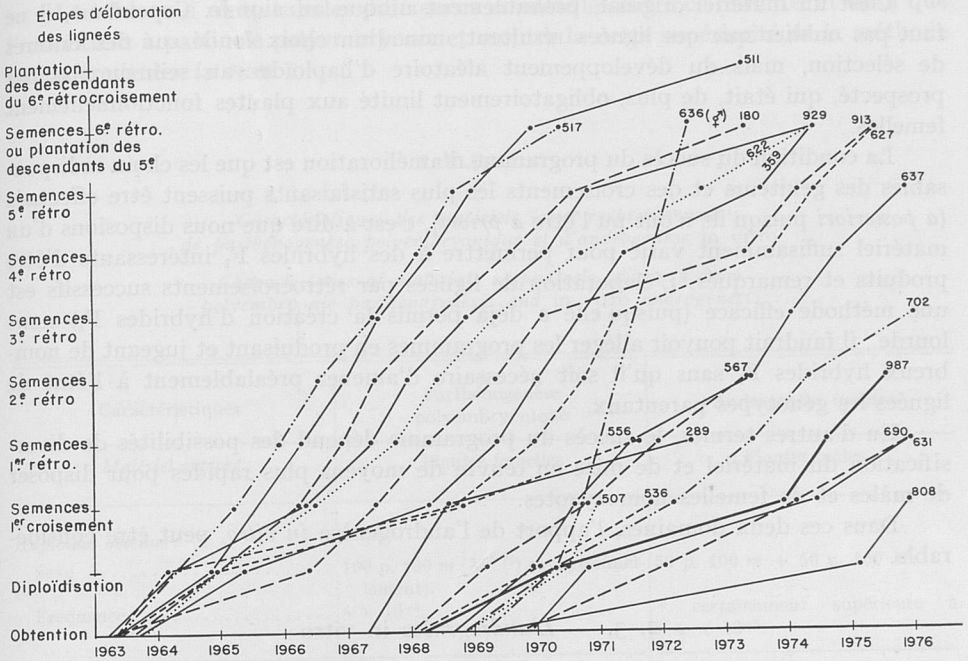


FIG. 4. — *Calendrier d'élaboration des lignées à partir de plantes diploïdisées*
(de 1965 à 1975)

Calendar of the elaboration of pure lines from diploidized plants
(1965 to 1975)

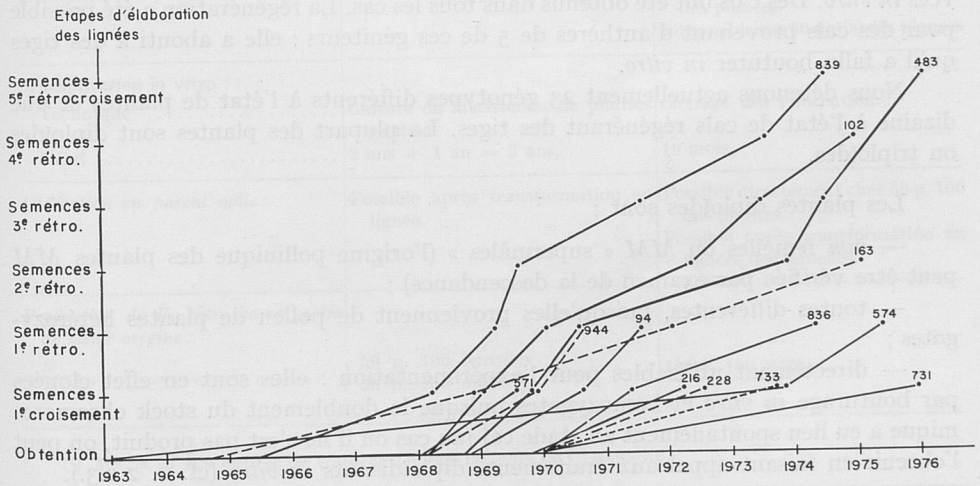


FIG. 5. — *Calendrier d'élaboration des lignées à partir de plantes haploïdes*
(de 1965 à 1975)

Calendar of the elaboration of pure lines from haploid plants
(1965 to 1975)

C'est un matériel original, probablement unique au monde. Cependant, il ne faut pas oublier que ces lignées résultent, non d'un choix fondé sur des critères de sélection, mais du développement aléatoire d'haploïdes au sein du matériel prospecté, qui était, de plus, obligatoirement limité aux plantes fonctionnellement femelles.

La condition du succès du programme d'amélioration est que les choix indispensables des géniteurs et des croisements les plus satisfaisants puissent être effectués (*a posteriori* puisqu'ils n'ont pu l'être *a priori*), c'est-à-dire que nous disposions d'un matériel suffisamment varié pour permettre à des hybrides F_1 intéressants d'être produits et remarqués. L'élaboration de lignées par rétrocroisements successifs est une méthode efficace (puisqu'elle a déjà permis la création d'hybrides F_1) mais lourde ; il faudrait pouvoir alléger les programmes en produisant et jugeant de nombreux hybrides F_1 sans qu'il soit nécessaire d'amener préalablement à l'état de lignées les génotypes parentaux.

En d'autres termes, le succès du programme dépend des possibilités de diversification du matériel et de mise en œuvre de moyens plus rapides pour disposer de mâles et de femelles homozygotes.

Dans ces deux domaines, l'apport de l'androgenèse *in vitro*, peut être considérable.

2. 3. — *L'androgenèse* in vitro

Les études nécessaires à la mise au point sur Asperge de la culture d'anthères *in vitro* et qui ont permis l'obtention de plantes homozygotes sont le fruit d'un travail d'équipe (SIMON, 1971 ; PELLETIER *et al.*, 1972 ; CATELAND, 1972 ; RAQUIN, 1973 ; LAMBERT, 1973 ; DORÉ, 1973, 1974 et 1975 *a*).

Jusqu'à présent les anthères de 10 géniteurs mâles hétérozygotes ont été cultivées *in vitro*. Des cals ont été obtenus dans tous les cas. La régénération a été possible pour des cals provenant d'anthères de 5 de ces géniteurs ; elle a abouti à des tiges qu'il a fallu bouturer *in vitro*.

Nous détenons actuellement 23 génotypes différents à l'état de plantes et une dizaine à l'état de cals régénérant des tiges. La plupart des plantes sont diploïdes ou triploïdes.

Les plantes diploïdes sont :

— *mm* femelles ou *MM* « supermâles » (l'origine pollinique des plantes *MM* peut être vérifiée par examen de la descendance) ;

— toutes différentes, puisqu'elles proviennent de pollen de plantes hétérozygotes ;

— directement utilisables pour l'expérimentation : elles sont en effet clonées par bouturage *in vitro* et homozygotes puisque le doublement du stock chromosomique a eu lieu spontanément au stade cal (au cas où il ne s'est pas produit, on peut l'obtenir en faisant appel aux traitements diploïdisants *in vitro* (cf. 2. 2.2.3.).

Ces plantes répondent donc au double objectif recherché :

— diversification du matériel ;

— réduction du nombre et de la durée des étapes de travail.

Le tableau 2 récapitule les différences essentielles entre ce matériel et celui que l'on obtient à partir de polyembryonie et montre la nette supériorité de la méthode par androgenèse *in vitro*.

TABLEAU 2

Caractéristiques des matériels issus respectivement de parthénogenèse polyembryonique et d'androgenèse in vitro

Characteristics of materials respectively obtained from polyembryonic parthenogenesis and in vitro *androgenesis*

Caractéristiques	Parthénogenèse polyembryonique	Androgenèse *in vitro*
Matériel exploré	Plantes femelles	Plantes mâles
Haploïdes obtenus :		
Sexe	100 p. 100 m (M^b [1] exceptionnellement).	50 p. 100 m + 50 p. 100 M.
Fréquence	4×10^{-5}.	? certainement supérieure à 4×10^{-5}.
Diploïdisation :		
Délai d'obtention d'un homozygote prêt à fleurir	Imprévisible (minimum 2 ans).	18 mois.
Sexe des homozygotes	mm (M^bM^b exceptionnellement).	50 p. 100 mm + 50 p. 100 MM (pas de bisexualité).
Multiplication par voie sexuée :	Possible en 5 ans.	Possible en 5 ans sur 50 p. 100 des plantes. Impossible sur 50 p. 100 des plantes
Multiplication in vitro :		
Technique	Culture de méristèmes de plantes adultes.	Clonage dès l'obtention.
Délai	2 ans + 1 an = 3 ans.	18 mois.
Utilisation en parent mâle :	Possible après transformation en lignée.	Possible directement chez 50 p. 100 des plantes. Possible après transformation en lignées des femelles.
Production de F_1 entre homozygotes de même origine :		
Sexe	50 p. 100 femelles 50 p. 100 mâles	100 p. 100 mâles.

[1] $M^b = M$ susceptible de transmettre des facteurs de bisexualité.

Ces deux types de matériels sont cependant destinés aux mêmes fins : création, expérimentation et, éventuellement, diffusion d'hybrides F_1.

2. 4. — *Réalisation des hybrides F_1 pour l'expérimentation*

Toutes les combinaisons entre homozygotes mâles et femelles doivent être rapidement essayées.

La production de semences F_1 en petites quantités pour une première observation des hybrides est possible en serre par pollinisation manuelle de toutes les femelles diploïdisées quelle que soit leur origine, dans la mesure où :

a) la femelle homozygote a pu être fragmentée en quelques exemplaires par éclatement de la griffe afin d'augmenter ses possibilités de production de graines ;

b) sa fertilité est bonne ;

c) le pollen du parent mâle (supermâle provenant d'un haploïde doublé ou mâle d'une lignée) est disponible lors de la floraison de la femelle.

Dans ces conditions, on peut obtenir, au cours d'une année, sur une plante femelle homozygote partagée en 5 ou 6 fragments, 2 hybrides F_1 différents avec pour chacun 400 à 500 graines.

Lorsque des quantités plus importantes de graines de chaque croisement deviennent nécessaires, il est impossible, dans nos conditions de travail, de procéder par pollinisation manuelle. Il faut faire appel à d'autres techniques ; la meilleure consiste à produire, en même temps, plusieurs hybrides F_1 ayant le même parent mâle : des femelles des divers génotypes (femelles de lignées élaborées ou d'origine polliniques clonées *in vitro*) sont placées dans le compartiment isolé où est multipliée la lignée servant de père (cf. 2. 2.3.4). Les abeilles assurent en même temps cette multiplication et la production des divers hybrides F_1 sur les femelles correspondantes. Nous récoltons ainsi plus d'un millier de graines par femelle (si le parent mâle commun n'est pas une lignée mais un supermâle, il suffira de le cloner *in vitro*). Ce procédé est en cours d'application.

2. 5. — *Appréciation de la valeur agronomique des F_1*

L'absence de toute sélection jusqu'au stade F_1 nous contraint à juger tous les hybrides. Entre la création d'un hybride et l'appréciation de sa valeur, il s'écoule au moins 4 ans, souvent 5 (fig. 6) malgré les progrès que nous avons réalisés par l'étude des « corrélations dans le temps » (THÉVENIN, 1968-1971).

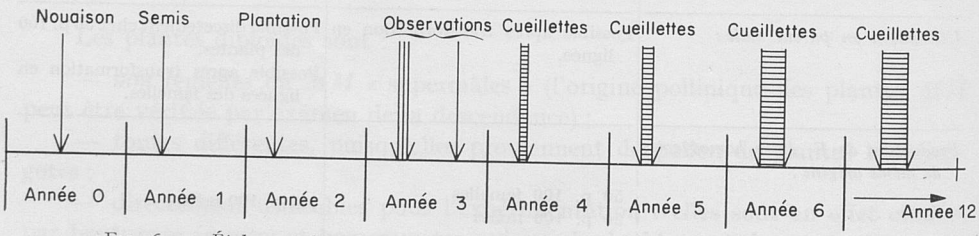


FIG. 6. — *Étalement dans le temps des diverses étapes entre la création d'un hybride et l'appréciation de sa valeur*

The successive steps between the creation of a hybrid and the assessment of its value

D'autre part, il y a une très nette interaction génotype × milieu. L'expérimentation des hybrides F_1 doit donc être faite dans des implantations géographiques diverses.

TABLEAU 3

Résultats obtenus avec les premiers hybrides F_1 expérimentés. Rendement annuel (1) *et rendement précoce* (2) *exprimés en p. 100 du témoin*

Results obtained with the first F_1 hybrids tested. Annual (1) *and early* (2) *yield expressed as a percentage of the check*

Observations	N° de l'hybride F_1																							
	1		3		5		7		9		20		21		23		27		28		29		30	
Nombre de champs d'essais .	5		5		5		5		5		5		5		5		4		4		4		4	
Nombre d'années de récolte..	3		3		3		3		3		2		2		2		1		1		1		1	
Nombre d'observations	15		15		15		15		15		10		10		10		4		4		4		4	
	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
Minimum observé	99	50	125	162	52	17	63	139	104	143	93	67	64	42	90	50	102	85	125	79	59	57	120	109
Moyenne	154	152	200	333	97	125	164	300	201	354	152	188	189	253	180	232	188	405	225	431	148	158	154	210
Maximum observé	229	429	499	793	160	202	233	638	452	718	260	624	308	337	301	686	382	862	459	800	274	277	234	449

(2) Rendement précoce = production cumulée à une date déterminée (variable avec l'année) correspondant, en principe, à la chute des « cours primeurs ».

Dans ce but, un réseau d'essais est organisé depuis 1971 (1).

Jusqu'ici 16 F_1 ont fait l'objet d'observations sur récoltes, deux d'entre eux, les numéros 3 et 9 ont montré une très nette supériorité de rendement et de précocité par rapport aux témoins (tabl. 3). La préparation d'essais plus importants de ces F_1 est en cours ainsi que la mise en culture des lignées parentes en vue de l'implantation éventuelle de champs de porte-graines.

Plus récemment, les premiers F_1 dont le parent mâle est issu de culture d'anthères ont été mis en essais. Leur valeur agronomique n'est pas encore connue mais leur floraison a pu être observée et a permis de vérifier que toutes les plantes sont bien mâles.

2. 6. — *Perspectives*

Le programme à long terme verra le début de son aboutissement avec la diffusion du premier hybride F_1 entre lignées. D'autres hybrides entre lignées suivront sans doute, mais l'utilisation de l'androgenèse *in vitro* fera, en outre, intervenir des F_1 de conception différente ; en effet, outre les hybrides entre lignées, il faut prévoir :

a) l'apparition de F_1 entièrement mâles à partir des supermâles obtenus *in vitro* par culture d'anthères de plantes hétérozygotes : des essais sont déjà implantés avec ce matériel, dont les premiers résultats seront connus en 1977. En raison de la supériorité de rendement des plantes mâles en général, on peut estimer que la création d'hybrides F_1 à partir de supermâles peut constituer, même sans sélection préalable des parents, un facteur de progrès considérable ;

b) dans le cas où une sélection préalable des parents est intervenue, c'est-à-dire orsqu'un hybride F_1 entre lignées s'est déjà montré supérieur aux témoins, il est possible d'en produire une « version mâle » (F_1 de même génotype mais composée exclusivement de plantes mâles) : pour cela, il suffit de cultiver des anthères de la lignée paternelle (homozygote) et d'en tirer un supermâle, qui sera, pour les gènes autosomaux à peu près isogénique de cette lignée. Ce travail est en cours.

CONCLUSION

L'amélioration de l'Asperge est apparue à son début difficile et lente, mais non impossible. Abordée dans des directions diverses avec, en particulier, une méthode aussi inhabituelle que l'utilisation d'haploïdes spontanés, elle paraissait hasardeuse.

De nombreuses difficultés, liées à la biologie de l'espèce, ont, en outre, freiné sa progression et alourdi le programme de travail sans toutefois le faire échouer : des résultats importants ont été acquis. Mais tout au long des années de recherches, il est apparu que la plupart des obstacles rencontrés aux diverses étapes du travail pourraient être surmontés avec l'appui de la culture *in vitro*. L'importance du rôle que pourraient jouer ces techniques a été mise en évidence, d'abord pour le clonage

(1) Essais réalisés en collaboration avec l'ACVPF (Association des Créateurs de Variétés potagères et florales), répartis dans différentes régions de France. Chaque année, un nouvel essai est mis en place dans tous les champs du réseau. Il comporte les nouveaux F_1 obtenus mis en comparaison avec quelques témoins commerciaux, toujours les mêmes.

des géniteurs (THÉVENIN, 1967), puis pour l'obtention d'haploïdes androgénétiques (THÉVENIN, 1968).

Les succès obtenus sont dus, non seulement à l'ampleur des moyens mis en œuvre, mais aussi au fait que l'Asperge paraît être une espèce assez « malléable » lorsqu'elle est placée dans les conditions actuelles de la culture *in vitro :* diverses parties de la plante peuvent, en effet, dans ces conditions, régénérer des plantes, comme le montrent les nombreux travaux antérieurement mentionnés (DORÉ, 1975 *b*).

Ces résultats permettent d'envisager une utilisation encore plus vaste de la culture *in vitro*. Le clonage, la diploïdisation et l'androgenèse *in vitro* constituent les 3 volets d'un ensemble de techniques dont l'application a, d'ores et déjà, ouvert la voie à la création de matériels tout à fait nouveaux : les hybrides de clones (fig. 7) et les F_1 entièrement mâles. En présence d'une espèce pérenne, sur laquelle tout juge-

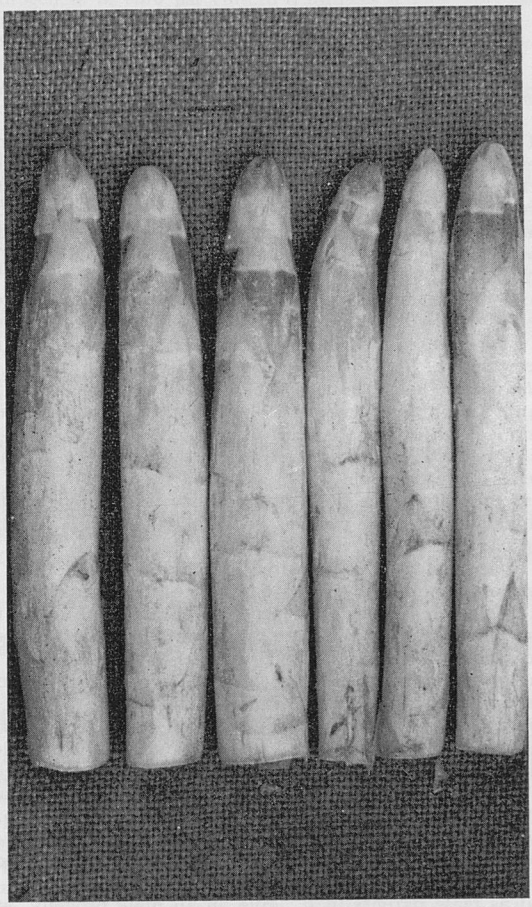


FIG. 7. — *Turions de l'un des hybrides de clones destinés à la commercialisation*

Spears of one of the clone hybrids aimed at commercial production

ment nécessite actuellement plusieurs années d'attente et d'importantes superficies de culture, le sélectionneur ne peut manquer de s'intéresser à toute technique nouvelle susceptible de lui fournir des moyens rapides, praticables en laboratoire, de transformer ou d'apprécier son matériel : la mutagenèse sur cellules haploïdes, le criblage biochimique des mutants sont, par exemple, des perspectives tentantes (parmi d'autres) qui pourraient être envisagées.

A ce point de vue, la culture *in vitro*, qui est déjà devenue l'atout majeur de l'amélioration de l'Asperge, peut encore lui apporter beaucoup.

Reçu pour publication en février 1976.

SUMMARY

ASPARAGUS IMPROVEMENT AND ITS CHIEF ASSET : *IN VITRO* CULTURE

The main purpose of our Asparagus improvement program is a gain in productivity. Also given attention were gains in earliness and quality of spears.

We investigated two different directions with dioecism and the perennial nature of this species raising problems in both cases. Since 1973, *in vitro* culture has solved these problems.

— The short term program seeks rapid increasing of yields without paying attention to homogeneity. The progeny of various pairs (1 male and 1 female) were compared. Some of the hybrids yielded far more than the controls ; they could have been released on the market if we had been able to clone the two parent plants so as to produce enough seed. However, cloning was only achieved by 1974.

Nevertheless, the best yielding pairs were used in double crosses : two good pairs were chosen, and the parents were switched so that maximum heterosis appeared at the double hybrid level. Four double hybrids were released (« Diane », « Junon », « Minerve », « Lara »). They are highly productive but heterogeneous.

Since 1974, *in vitro* culture has been used to clone good genitors (either from cuttings or meristems). As a rule, plants are obtained that will bloom within 9 months after the meristems have been started. By cloning *in vitro* the two genitors of a good hybrid, a so-called clone hybrid is obtained. The first of these will be released in 1977 : they produce at least as much as double hybrids, and they are less heterogeneous.

— The long-term program seeks both productivity and homogeneity in the breeding of homozygous lines which will then be used as parents to obtain F_1 hybrids. Homozygosity is obtained by doubling haploids.

A first series of approximatly one hundred haploids was obtained from polyembryonic seeds. Their diploidization, almost in every case, produces an homozygous *mm* female (the male sex is heterogametic *Mm*). An isogenic male can be obtained through repeated backcrosses. After 5 backcrosses, an almost homozygous line can be obtained, that can be reproduced sexually. Nine such lines have already been established. Various F_1 hybrids from these lines are being tested. The better ones are being prepared for release. This process gives good results but is very lengthy and diploidization of haploids is both difficult and costly.

Recently, *in vitro* culture of meristems on a medium containing colchicine has allowed the doubling of chromosomes of genotypes where *in vivo* treatment had failed. This efficient and inexpensive technique is now applied to all haploids which must be doubled.

A second series of haploids has been obtained since 1973 by means of *in vitro* anther culture. This technique either produces haploids, or directly produces homozygous plants through spontaneous doubling *in vitro*. These plants are either *mm* females (50 p. 100) or « supermales » *MM* (50 p. 100). They can be cloned *in vitro* (the females can also be used in backcrosses, as is the case for polyembryonic females).

Supermales, used as male parents in F_1, give an all male progeny, which has agronomical value. The anther culture from plants of those lines used as male parents in good F_1 makes possible to obtain the « male version » of these F_1.

This points out the superiority of *in vitro* androgenesis over polyembryonic seeds scanning.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BANNEROT H., DERIEUX M., THÉVENIN L., ARNOUX J., 1969. Résultats d'un essai comparatif de populations d'asperge. *Ann. Amélior. Plantes*, **19** (3), 289-324.

BEESKOW H., 1967. Untersuchungen über die Variabilität der Andromonözie/Diözie und ihre Korrelationen mit verschiedenen Ertragsfaktoren bei Spargel (*Asparagus off.* L.) unter besonderer Berücksichtigung der Züchtung rein männlicher Sorten. *Z. Pflanzenzücht.*, **57**, 254-283.

BUI DANG HA D., 1973. Formation de tiges, racines embryoïdes et plantes entières à partir des cals d'Asperge provenant de protoplastes. *Eucarpia, 4e réunion sur la sélection de l'Asperge*, Versailles, 155-162.

BUI DANG HA D., NORREEL B., MASSET A., 1975. Regeneration of *Asparagus officinalis* L. through callus culture derived from protoplasts. *J. exp. Bot.*, **25**, 91.

CATELAND B., 1972. Étude de divers aspects de l'androgenèse *in vitro* chez *Asparagus officinalis* L. *D. E. A., Amélior. des Plantes, Fac. Sci.*, Orsay, 47 p.

CATELAND B., LAMBERT A., 1973. L'androgenèse *in vitro* par culture d'anthères d'*Asparagus officinalis*. II. Les problèmes de polyploïdie. *Eucarpia, 4e réunion sur la sélection de l'Asperge*, Versailles, 183-189.

DORÉ C., 1973. L'androgenèse *in vitro* par culture d'anthères d'*Asparagus officinalis*. I. État actuel des recherches. *Eucarpia, 4e réunion sur la sélection de l'Asperge*, Versailles, 173-181.

DORÉ C., 1974. Production de plantes homozygotes mâles et femelles à partir d'anthères d'Asperge. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, *série D*, **278**, 2135-2138.

DORÉ C., 1975 *a*. *Utilisation de la culture* in vitro *chez l'Asperge cultivée* (Asparagus officinalis *L.*). Thèse de 3e cycle. Univ., Paris Sud, Orsay, 68 p.

DORÉ C., 1975 *b*. La multiplication clonale de l'Asperge (*Asparagus officinalis* L.) par culture *in vitro* : son utilisation en sélection. *Ann. Amélior. Plantes*, **25** (2), 201-224.

DORÉ C., 1976. Doublement du stock chromosomique d'haploïdes d'Asperge (*Asparagus officinalis* L.) par culture *in vitro* des méristèmes. *Ann. Amélior. Plantes*, **26** (4), 647-653.

HONDELMANN W., WILBERG B., 1973. Breeding allmale varieties of *Asparagus* by utilisation of anther and tissue-culture. *Z. Pflanzenzücht.*, **69**, 19-24.

JONES D. F., 1918. The effects of inbreeding and crossbreeding upon development. *Conn. agr. exp. Stat. Bull.*, 207.

JULLIEN M., 1975. *Contribution à l'étude des cultures* in vitro *de cellules séparées du tissu foliaire et de leurs potentialités organogènes chez quelques plantes supérieures, en particulier* Asparagus officinalis *L.* Thèse de 3e cycle. Université Paris VI, 94 p.

KAPPERT H., 1941. Willkürliche Änderungen des Geschlechtsverhältnisses und ihre Ausnutzung in der Pflanzenzüchtung. *Umschau*, **49**, 772.

LAMBERT A., 1973. L'instabilité caryotypique des tissus d'Asperge (*Asparagus officinalis* L.) cultivés *in vitro*. *D.E.A., Amélior. Plantes, Fac. Sci.*, Orsay.

PELLETIER G., RAQUIN C., SIMON G., 1972. La culture *in vitro* d'anthères d'Asperge (*Asparagus officinalis*). *C. R. Acad. Sci.*, Paris, *série D*, **274** (6), 848-851.

RAQUIN C., 1973. Étude de l'androgenèse *in vitro* chez *Petunia hybrida* et *Asparagus officinalis*. *Soc. Bot. Fr. Mém. Coll. Morphologie*, 269-274.

RICK C. M., HANNA G. C., 1943. Determination of sex in *Asparagus officinalis* L. *Amer. J. Bot.*, **30**, 711-714.

ROBBINS W. W., JONES H. A., 1926. Sex as a factor in growing asparagus. *Proc. Amer. Soc. hortic. Sci.*, **23**, 19-23.

SIMON G., 1971. Production d'haploïdes par culture d'anthères : culture d'anthères d'Asperge (*A. officinalis* L.). *D. E. A., Amélior. des Plantes. Fac. Sci.*, Orsay, 32 p.

SNEEP J., 1953. The significance of andromonoecy for the breeding of *Asparagus officinalis* L. *Euphytica*, **2**, 89-95 et 224-228.

TENDILLE C., LECERF M., 1974. La multiplication végétative de l'Asperge (*Asparagus officinalis* L.). Action de divers facteurs en particulier de la nutrition minérale, sur le développement des méristèmes d'asperge, sur la croissance des plantules issues de ces méristèmes et sur la production de plantes adultes. *Ann. Amélior. Plantes*, **24** (3), 269-282.

THÉVENIN L., 1967. Les problèmes d'amélioration chez *Asparagus officinalis* L. I. Biologie et amélioration. *Ann. Amélior. Plantes*, **17** (1), 33-66.

THÉVENIN L., 1968. Les problèmes d'amélioration chez *Asparagus officinalis* L. II. Haploïdie et amélioration. *Ann. Amélior. Plantes*, **18** (4), 327-365.

THÉVENIN L., 1968-1971. Asperge. *Rapport d'activité. Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes de Versailles*, J1-J30.

THÉVENIN L., 1972-1974. Asperge. *Rapport d'activité. Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes de Versailles*, H1-H40.

THÉVENIN L., 1973. Les divers aspects de la sélection de l'Asperge en France. *Eucarpia, 4e réunion sur la sélection de l'Asperge*, Versailles, 55-69.

THÉVENIN L., 1974. Haploids in asparagus breeding. *Haploids in higher plants*. Proc. of the first Intern. Symp. Guelph (Canada), 279.

WRICKE G., 1968. Untersuchung zur Vererbung des Geschlechts bei *Asparagus officinalis* L. I. Ein Majorfaktor für die Ausprägung des Andromonöziegrades. *Z. Pflanzenzücht*, **60**, 201-211.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (4), 675-716.

L'AMÉLIORATION DE L'ASPERGE (*ASPARAGUS OFFICINALIS* L.) : APPLICATION CONJOINTE DE MÉTHODES STATISTIQUES DESCRIPTIVES ET INFÉRENTIELLES A L'UTILISATION RAISONNÉE DES DIFFÉRENCES DE PRODUCTION ENTRE PLANTES MÂLES ET FEMELLES (1)

J.-P. LEY, M. MONGET* et Lucette THÉVENIN**

Laboratoire de Biométrie,
Centre national de Recherches zootechniques, I. N. R. A.,
78350 Jouy en Josas

* *École nationale d'Ingénieurs des Travaux agricoles et horticoles,*
49000 Angers

** *Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes,*
Centre national de Recherches agronomiques, I. N. R. A.,
78000 Versailles

RÉSUMÉ

Les plantes mâles ont, chez l'Asperge, la réputation d'être « agronomiquement » supérieures aux femelles. Les hybrides F_1 entre lignées homozygotes d'Asperge constituent un matériel de choix pour l'étude des différences de production entre les sexes :

a) leur homogénéité génétique permet d'attribuer les différences observées entre mâles et femelles, au sexe seul ;

b) chez les hybrides F_1 dont la production des plantes mâles se montrera plus intéressante que celle des plantes femelles, la création de la « version mâle » de l'hybride sera possible à partir de la culture *in vitro* des anthères de la lignée paternelle ;

L'application conjointe de diverses méthodes statistiques a permis de simplifier l'étude :

a) les productions cumulées de chacun des sexes et leur évolution en cours de saison sont comparées par des analyses de variance dont le nombre a pu être considérablement réduit par des regroupements de cueillettes opérés rationnellement grâce à l'analyse factorielle des correspondances ;

(1) Une partie de ce travail a fait l'objet du mémoire de fin d'études de M. MONGET à la suite d'un stage qu'il a effectué en 1975 à la Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes de Versailles.

b) le test de Kolmogorov-Smirnov a fourni un critère pour apprécier les différences entre les distributions (non gaussiennes) des calibres des turions produits par les plantes des 2 sexes.

D'une part, l'étude confirme les résultats habituels : supériorité générale des mâles pour la productivité et la précocité, supériorité des femelles pour le calibre des turions ; d'autre part, elle met en lumière les nuances qui existent, au niveau de ces différences sexuelles, selon l'hybride et la période considérés et selon les conditions de culture.

En conclusion, l'intérêt de créer la version mâle des hybrides F_1 doit être examiné, cas par cas, préalablement.

INTRODUCTION

Le programme d'amélioration de l'Asperge entrepris à l'I.N.R.A. a vu, depuis 1974, l'aboutissement de sa première étape « à court terme » avec la diffusion d'hybrides (dénommés « hybrides doubles ») élaborés selon un schéma récemment rappelé (THÉVENIN et DORÉ, 1976). Ces « hybrides doubles » constituent un premier pas vers l'augmentation de la productivité des aspergeraies (but essentiel de notre travail), mais ils n'ont aucun caractère d'homogénéité.

L'orientation « à long terme » de notre programme va prochainement aboutir à la diffusion d'hybrides F_1 réalisés entre lignées homozygotes obtenues à partir d'haploïdes spontanés (THÉVENIN, 1968) et qui présentent une homogénéité tout à fait inhabituelle chez cette espèce.

Ces deux types de matériel (« hybrides doubles » et hybrides F_1) sont toutefois constitués, comme toute population courante d'asperges, environ par moitiés de plantes mâles et de plantes femelles.

Dans quelle mesure la création de tels hybrides était-elle souhaitable alors que la supériorité agronomique des plantes mâles d'Asperge est connue depuis longtemps déjà (TIEDJENS, 1924) et que l'idée de planter exclusivement des mâles pour accroître les rendements par hectare est admise par bien des producteurs ?

On sait que peu de griffes fleurissent en pépinière et que les phénotypes des plantes des deux sexes ne diffèrent pas assez pour permettre de les distinguer, de sorte que le tri des mâles et des femelles avant plantation est, pour l'instant, impossible. Il aurait donc paru intéressant d'orienter le programme d'amélioration, non vers des hybrides comportant à la fois des plantes des deux sexes, mais vers la création de matériel exclusivement composé de plantes mâles.

En présence de cette proposition, plusieurs questions se posent :

— Est-il réellement possible d'obtenir un tel matériel ?
— Dans l'affirmative, ce matériel est-il toujours avantageux ?
— Peut-on connaître à l'avance l'intérêt de ces hybrides F_1 entièrement mâles ?

Nous nous proposons dans une première partie de répondre rapidement à ces questions et, dans une deuxième partie, de développer plus longuement les moyens dont nous disposons pour explorer toutes les possibilités actuelles d'utilisation des différences de production observables entre sexes.

PREMIÈRE PARTIE

1. — *Est-il réellement possible d'obtenir un matériel exclusivement composé de plantes mâles ?*

1. 1. *A partir de plantes bisexuées.*

Dès 1943, RICK et HANNA ont exposé le principe d'une méthode qui devait permettre de se procurer de tels hybrides par la voie génétique : ces auteurs ont d'abord établi que le sexe porteur d'étamines est hétérogamétique, déterminé par un facteur mendélien simple dominant, le sexe femelle étant homozygote récessif pour ce caractère ; ils ont ensuite montré que, chez les individus bisexués, rencontrés exceptionnellement dans la nature, la présence d'étamines est déterminée de la même façon (facteur mendélien simple dominant) alors que l'aptitude de ces plantes à la production de graines est sous la dépendance, à la fois, de facteurs externes et de modificateurs de nature génique. L'aptitude des individus bisexués (hétérogamétiques) à s'autoféconder leur confère la possibilité de donner des descendants staminés, homozygotes dominants pour le facteur sexuel (25 p. 100 de leur descendance). Ces individus homozygotes dominants, utilisés pour polliniser des plantes femelles (homozygotes récessives) conduisent à une descendance ne comportant que des individus hétérozygotes pour le facteur sexuel, donc staminés.

Par la suite, SNEEP (1953), envisageant la création de lignées homozygotes par autofécondations successives de plantes bisexuées, dénomma *M* le facteur sexuel dominant (et *m* le récessif) et mit en évidence la complexité de la transmission du caractère bisexué.

L'étude de ce caractère a donné lieu, ultérieurement, à la publication de différentes hypothèses quant à la nature et à l'hérédité de l'état bisexué. Cet ensemble de travaux, joint à nos propres observations (THÉVENIN, 1968-1971) nous ont permis de conclure qu'il serait délicat d'utiliser un caractère plurifactoriel, mal connu, dépendant de manière imprécise des facteurs externes et qui, par ailleurs, s'avérait agronomiquement indésirable (les plantes bisexuées sont généralement peu vigoureuses et produisent de nombreuses tiges grêles).

Pour obtenir un matériel entièrement composé de mâles en partant de matériel bisexué, l'alternative qui se présentait était la suivante :

a) utiliser comme parent mâle une plante *MM* « fortement » bisexuée (BEESKOW, 1967) qui se multiplie facilement mais produit une descendance bisexuée (ce qui n'est pas souhaitable) ;

b) utiliser une plante *MM* « faiblement » bisexuée qui produit une descendance peu bisexuée mais qui doit être clonée pour être utilisable, ce que nous ne savions pas faire à l'époque où débutait notre travail.

En présence de solutions aussi peu séduisantes, nous avons jugé préférable de nous engager dans la voie de création d'un matériel de valeur agronomique sûre mais comportant des individus des deux sexes.

1. 2. — *Par androgenèse* in vitro.

Actuellement, la situation a beaucoup évolué : depuis 1973, la culture d'anthères *in vitro* (Doré, 1974 et 1975 *a*) permet d'obtenir des individus *MM* (dits « supermâles ») qui, ne provenant pas de matériel bisexué, ne présentent plus les inconvénients des *MM* obtenus 10 ans plus tôt ; les supermâles ont, en outre, l'avantage d'être homozygotes pour tous les loci puisque obtenus par diploïdisation d'haploïdes androgénétiques. La même technique permet également le clonage de ces individus dont il est possible de se procurer autant d'exemplaires qu'on le désire.

La production d'hybrides entièrement composés d'individus mâles (et non bisexués) est donc tout à fait possible maintenant, par croisement contrôlé, à partir du pollen des supermâles obtenus *in vitro*.

On peut la concevoir de diverses façons :

a) Pollinisation de lots de plantes femelles quelconques, hétérozygotes, aboutissant à un hybride très hétérogène ;

b) Pollinisation d'une femelle hétérozygote clonée *in vitro* (Doré, 1975 *b*), aboutissant à un hybride « 3 voies » encore hétérogène ;

c) Pollinisation d'une femelle homozygote obtenue par doublement d'haploïde (d'origine andro- ou parthénogénétique) et clonée *in vitro*. L'hybride F_1 obtenu sera parfaitement homogène.

d) Pollinisation des plantes femelles d'une lignée homozygote issue, par rétrocroisements répétés, d'un haploïde femelle diploïdisé. L'hybride obtenu sera homogène.

Dans tous les cas, le matériel obtenu ne comptera que des plantes mâles, mais sa valeur dépendra évidemment des plantes choisies pour servir de parent femelle, et du supermâle utilisé.

2. — *Un tel matériel est-il toujours avantageux ?*

De nombreuses publications font état de la supériorité de production et de précocité des plantes mâles. Cependant, peu de travaux ont été conduits de façon assez systématique pour permettre des mesures précises ; il faut, en effet, effectuer, tout au long de la saison de récolte, les cueillettes plante par plante si l'on veut, ensuite, séparer le produit des plantes mâles de celui des plantes femelles (ce qui implique, en outre, sur le terrain, un repérage des plantes par sexe d'une année à l'autre). Ces difficultés suffisent à expliquer la rareté de données statistiquement interprétables.

Une étude détaillée de ce type a toutefois été conduite durant plusieurs années consécutives sur l'un de nos essais de Sologne (Bannerot *et al.*, 1969). Elle a abouti, en particulier, à conclure que « globalement les mâles sont supérieurs aux femelles »... mais que « la supériorité des mâles est variable suivant les populations ».

A la suite de ces résultats, nous avons repris, depuis 1971, les observations individuelles sur divers lots mis en comparaison (« hybrides doubles », hybrides F_1, témoins commerciaux) dans un réseau d'essais répartis entre différentes régions de France.

Les observations sur 3 ans qui ont été publiées en détail (Thévenin, 1972-1974) confirment les résultats annoncés en 1969 et « laissent planer un doute sur l'intérêt

que présenterait la recherche systématique de populations entièrement constituées de plantes mâles ».

En conclusion, il ne semble pas évident que l'on ait, dans tous les cas, intérêt à essayer de supprimer les plantes femelles dans les aspergeraies. Il devient donc important de savoir, puisque nous avons la possibilité de créer des hybrides F_1 uniquement composés de mâles (cf. 1.2 *c* et *d*) dans quels cas l'utilisation de ce type d'hybride est intéressante.

3. — *Peut-on connaître à l'avance l'intérêt des hybrides F_1 entièrement mâles ?*

La création de lignées homozygotes qui peuvent, après sexage [1], être utilisées, soit comme parent mâle soit comme parent femelle dans des croisements, a permis, depuis 1971, la mise en essais d'hybrides F_1 qui constituent un matériel tout à fait nouveau : ces hybrides homogènes sont, en effet, composés à la fois de plantes mâles et de plantes femelles, ne différant génotypiquement que par les facteurs sexuels (et par les caractères qui leur sont éventuellement liés).

En récoltant séparément les plantes des deux sexes, on peut avoir une idée exacte de la valeur de chacun des deux groupes et attribuer les différences observées au sexe seul.

Ces hybrides F_1 étant implantés dans tous les champs d'un réseau d'essais observés pendant plusieurs années, on doit pouvoir suivre l'évolution des différences entre sexes dans le temps (au cours des cueillettes échelonnées dans une saison, et au cours des années) et dans l'espace selon le champ considéré.

Enfin, et c'est là le point capital, si la supériorité des mâles sur les femelles apparaît clairement chez un hybride F_1, il est possible de refaire le même hybride F_1 dans sa « version » entièrement mâle, en cultivant les anthères de la lignée qui lui a servi de parent mâle : en effet, par cette méthode, on obtient un haploïde, puis un supermâle totalement homozygote, isogénique des plantes pères de la lignée (qui sont elles-mêmes homozygotes pour à peu près tous les loci autosomaux [2].

En d'autres termes, après un examen approfondi des productions de divers hybrides F_1 entre lignées, on peut créer les mêmes hybrides F_1 sous leur forme entièrement mâle en en connaissant d'avance l'intérêt.

Il importe, bien entendu, de disposer de données suffisantes et de traiter ces données par des méthodes bien adaptées, si l'on veut être correctement renseigné.

Nous nous proposons, dans la deuxième partie de cette publication, d'appliquer à 4 hybrides F_1 mis en essais en 1971 et 1972, une technique d'étude mettant en œuvre des méthodes encore peu usitées, dont l'application déborde parfois quelque peu l'étude stricte des différences entre sexes, mais qui devraient permettre dans l'avenir de bien connaître la valeur du matériel et de l'utiliser dans les meilleures conditions.

[1] Lors de la production d'un hybride F_1, seules doivent intervenir les plantes femelles de la lignée choisie pour mère et les plantes mâles de la lignée choisie pour père ; cela nécessite, préalablement à toute utilisation :

1. la détermination du sexe de toutes les plantes des deux lignées,
2. l'élimination des plantes de sexe « indésirable ». L'ensemble de ces opérations constitue le « sexage » des lignées.

[2] L'homozygotie totale ne peut être atteinte qu'asymptotiquement par la technique des rétrocroisements répétés.

DEUXIÈME PARTIE

1. — *Les données*

1. 1. *Origine des données.*

Les données proviennent des récoltes de 1973 à 1975 de champs d'essais comportant des hybrides F_1, issus de lignées homozygotes obtenues par recherche d'haploïdes spontanés. Ces hybrides participent à un réseau d'essais confiés aux membres de la section « Asperge » de l'Association des Créateurs de Variétés potagères et florales (A.C.V.P.F.).

Ce réseau comporte six champs, où la valeur agronomique des hybrides F_1 est comparée à celle de témoins commerciaux dans un dispositif en blocs aléatoires où la parcelle élémentaire compte 15 plantes et est répétée quatre fois.

Chaque année, depuis 1971, un essai comportant de nouveaux hybrides F_1 est mis en place chez les différents membres de l'A.C.V.P.F.

Seules les données de Saint-Rémy-de-Provence (Bouches-du-Rhône), Lédenon (Gard) et Soings-en-Sologne (Loir-et-Cher) ont été exploitées (1). Nous n'avons utilisé que les données individuelles = récolte de chaque plante exprimée en nombre de turions de chacun des 17 calibres définis comme suit : le calibre 1 correspond à une section inférieure ou égale à 50 mm², le 2 à une section comprise entre 50 et 100 mm², et ainsi de suite (de 50 mm² en 50 mm²) jusqu'au calibre 17 regroupant les sections supérieures à 800 mm². Sur le terrain, le calibre est déterminé en utilisant une plaque de métal portant des encoches ajustées aux diamètres qui correspondent aux limites des classes de section (BANNEROT *et al.*, 1969).

Si l'on assimile les turions à des cylindres de densité constante et de même longueur, le calibre mesuré est sensiblement proportionnel au poids du turion ; on a effectivement observé une excellente corrélation entre poids des turions récoltés et somme des calibres. Par exemple, dans les conditions du champ de Soings-en Sologne, 126 unités-calibres correspondaient à 1 kg de turions commercialisables.

1. 2. — *Exploitation des données.*

1. 2.1. *Choix des données.*

En raison de l'absence de données individuelles, certaines années dans certains champs, nous nous sommes limités à l'étude de la production de turions en fonction du sexe dans 3 groupes de données :

— Hybrides F_1 n° 3 et 9 :

a) années 1973 à 1975 à Soings-en-Sologne ;

b) année 1975 dans les 3 champs.

— Hybrides F_1 n° 21 et 23.

années 1974 et 1975 à Soings-en-Sologne et à Lédenon.

(1) Les autres données étaient incomplètes.

1. 2.2. *Transformations effectuées.*

Pour l'étude de l'évolution du rendement au cours de la saison, on a :

— fait la somme des numéros de calibre des turions produits par chaque plante à chaque cueillette ;

— regroupé ces sommes de calibres par sexe ;

— ramené cette production à celle de 50 plantes (aucun hybride n'était représenté par le même nombre de plantes mâles et femelles) (1).

Pour l'étude de la répartition des calibres des turions, on a :

— fait la somme des nombres de turions de chaque calibre produits par chaque plante au cours de l'année de récolte ;

— regroupé ces distributions de turions par sexe.

Enfin, pour l'étude du nombre de turions récoltés, on a rassemblé par sexe les nombres de turions récoltés chaque année sur chaque plante et ramené ces nombres à ceux produits par 50 plantes de même sexe.

2. — *Les méthodes d'analyse*

2. 1. *Évolution du rendement au cours de la saison.*

Le problème est de comparer plusieurs courbes de production cumulée du type de celles qui apparaissent sur la figure 1.

La méthode utilisée a été l'analyse de variance appliquée aux valeurs que prenaient les productions cumulées à différents instants. Nous aurions pu faire une analyse de variance après chaque cueillette, mais nous avons préféré regrouper un certain nombre de cueillettes, après lesquelles nous avons procédé à l'analyse. Ces

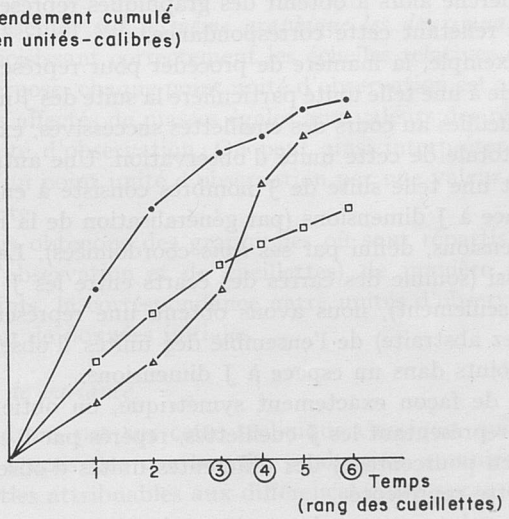


FIG. 1

(1) Nous avons choisi cette procédure expéditive de préférence à l'introduction d'une covariable (nombre de plantes) pour permettre l'application de l'analyse factorielle des correspondances préalablement aux analyses de variance (cf. 2.1).

Les écarts entre les nombres de plantes observées ne dépendent aucunement des facteurs étudiés et restent, dans tous les cas, faibles : la procédure employée ne risque donc pas de fausser les résultats.

instants critiques ont été déterminés à l'aide d'une méthode descriptive d'analyse des données, l'analyse factorielle des correspondances.

Ce travail a été effectué, après perforation des données sur cartes, à l'aide d'un calculateur IBM 360-50 et des programmes de calcul du Laboratoire de Biométrie du Centre national de Recherches zootechniques (C.N.R.Z.) de Jouy-en-Josas.

N. B. : Pour la commodité du traitement des données, le temps n'est pris en compte que par le rang de la cueillette. Comme la date du début des cueillettes ainsi que leur périodicité varient d'un champ à l'autre et d'une année à l'autre, seules les données comparables ont pu être utilisées, ce qui nous a entraînés à éliminer les résultats de la plantation 1972 de Saint-Rémy.

2. 1.1. *Analyse factorielle des correspondances.*

Nous avons utilisé cette technique dans le but de choisir les instants où nous procéderions à une analyse de variances sur les productions cumulées. Nous disposions en effet de données réparties sur un nombre de cueillettes allant jusqu'à 19 : il est clair que procéder à 19 analyses de variance consécutives aurait alourdi sans intérêt le travail de calcul et surtout d'interprétation, car les résultats auraient été très semblables dans de nombreuses analyses.

Nous verrons d'autre part sur un exemple (cf. § 3.1.1) comment l'analyse factorielle des correspondances aurait pu, à elle seule, suggérer, sinon établir certains résultats des analyses de variance.

Le principe de la méthode (Benzecri, 1973) revient à considérer les données comme l'expression d'une correspondance entre un ensemble de I individus (dans notre cas, les unités d'observation repérées individuellement par le champ, le numéro d'hybride, l'année de récolte et le sexe) et un ensemble de J variables (les cueillettes successives). On cherche alors à obtenir des graphiques représentant chacun de ces deux ensembles et reflètant cette correspondance.

Voyons, par exemple, la manière de procéder pour représenter les unités d'observation. On associe à une telle unité particulière la suite des J nombres représentant les J quantités recueillies au cours des cueillettes successives, exprimées en pourcentage de la récolte totale de cette unité d'observation. Une autre façon de nommer mathématiquement une telle suite de J nombres consiste à en parler comme d'un point dans un espace à J dimensions (par généralisation de la notion de point d'un espace à *trois* dimensions, défini par ses *trois* coordonnées). La notion de distance se généralisant aussi (somme des carrés des écarts entre les J coordonnées au lieu de 3 coordonnées seulement), nous avons obtenu une représentation géométrique (pour l'instant assez abstraite) de l'ensemble des unités d'observations sous forme d'un nuage de I points dans un espace à J dimensions.

En procédant de façon exactement symétrique, on obtient d'autre part un nuage de J points représentant les J cueillettes, repérés par I coordonnées qui sont les contributions (en pourcentage) des différentes unités d'observation à la récolte totale de la cueillette représentée.

Parvenus à ce point, nos représentations géométriques ne nous servent pas à grand-chose puisque nous avons encore besoin de toute une gymnastique intellectuelle pour comparer les profils de production de deux unités d'observation (en comparant les valeurs numériques des distances des deux points qui les représentent). Pour essayer de rendre la géométrie de nos nuages sensible à notre vue, nous allons

transformer ces nuages immatériels en solides, en affectant à chaque point une masse (égale à la récolte totale de l'unité d'observation ou de la cueillette selon les cas). De ce fait, nous pouvons définir l'inertie du nuage, et donc chercher l'axe d'inertie principal, c'est-à-dire l'axe tel que la projection du nuage sur cet axe respecte l'inertie initiale, au mieux. Nous obtenons ainsi une représentation des unités d'observations sous forme de points représentatifs répartis sur un axe : les distances apparaissent clairement à l'œil entre observations ou même entre groupes d'observations. Nous pouvons recommencer et chercher, parmi les axes perpendiculaires au premier, celui qui absorbe le plus d'inertie : en projetant le nuage sur le plan de ces deux axes, on en obtient encore une représentation lisible (puisque plane) et améliorée, puisque l'inertie absorbée est alors la somme de celles des deux axes. Et nous pouvons améliorer encore notre perception du nuage en effectuant les projections sur les axes suivants.

Il nous faut préciser ici un point important : l'inertie du nuage est définie par les masses des points matériels et par les distances. Or, en analyse factorielle des correspondances, la distance choisie n'est pas la distance euclidienne classique définie précédemment (somme des carrés des différences entre coordonnées) mais la *distance du* χ^2 (on pondère chaque carré de différence par l'inverse de la récolte totale correspondant à la coordonnée en question). Ce choix se traduit par deux avantages :

1. on obtient l'intéressante propriété d'*équivalence distributionnelle*, c'est-à-dire que l'on peut remplacer deux unités d'observation par leur somme, en obtenant un graphique exactement identique pour les points représentatifs des autres unités ; le point représentatif de la somme est alors au centre de gravité des deux points représentatifs des unités choisies (ce qui est fort utile pour comparer des groupes d'unités) ;

2. on peut représenter *sur le même graphique les deux nuages* (d'individus et de variables) : en choisissant correctement les échelles relatives des deux représentations que l'on superpose, chaque point unité d'observation est au centre de gravité des points cueillettes affectés de masses égales aux valeurs des récoltes de ces cueillettes pour cette unité d'observation. On peut ainsi interpréter la proximité d'un point cueillette et d'un point unité d'observation par une valeur relative forte de la récolte correspondante.

En résumé, nous obtenons des graphiques où sont répartis des points (représentatifs d'unités d'observation et de cueillettes) de manière à refléter, par des proximités entre points, la correspondance entre unités d'observation et cueillettes définie par le tableau de données initiales.

2. 1.2. *Analyse de variance.*

Nous ne reviendrons pas sur cette technique classique, qui nous a permis de comparer certaines étapes des courbes de production cumulée en décomposant la variabilité en parties attribuables aux différences entre sexes, entre années, entre champs, etc.

2. 2. *Comparaison des répartitions de calibres selon le sexe.*

Nous avons fait cette comparaison à partir des répartitions des récoltes annuelles. Celles-ci n'étant ni gaussiennes ni poissonniennes (THÉVENIN, 1971), nous avons

effectué la comparaison par une méthode non paramétrique, le test de Kolmogorov-Smirnov. Ce test est fondé sur le maximum de l'écart absolu observé entre les deux fonctions de répartitions (calculées en cumulant les pourcentages observés selon les calibres en ordre croissant). On peut montrer que cet écart absolu maximum est une variable aléatoire dont la distribution ne dépend pas des fonctions de répartition théoriques sous-jacentes, mais des seules dimensions des échantillons comparés. L'hypothèse d'égalité des deux répartitions est alors rejetée lorsque l'écart maximum observé dépasse une quantité que l'on calcule simplement à partir des nombres d'observations et d'une valeur lue dans une table (SIEGEL, 1956).

3. — *Résultats et interprétation*

Les analyses ont été effectuées successivement pour les trois groupes de données définis au paragraphe 1.2.1 : comparaison des hybrides n° 3 et 9 d'abord dans un champ pendant trois ans, puis une année dans trois champs, comparaison des n° 21 et 23 dans deux champs pendant deux années.

3. 1. *Étude des hybrides n° 3 et 9 à Soings-en-Sologne en 1973-1974-1975.*

3. 1.1. *Évolution du rendement au cours de la saison.*

Les données utilisées concernent trois années, où les cueillettes ont été effectuées : 7 fois en 1973, 14 fois en 1974 et 19 fois en 1975.

3. 1.1.1. *Analyses factorielles des correspondances.*

La disparité des nombres de cueillettes par année nous a amenés à réaliser deux analyses factorielles de correspondance : la première portant sur les trois années et seulement les sept premières cueillettes, et la seconde sur les années 1974 et 1975 avec les 14 premières cueillettes.

a) *Analyse des sept premières cueillettes* (fig. 2).

Nous disposons d'un ensemble de 12 unités expérimentales (3 années × 2 hybrides × 2 sexes) dont les points représentatifs sont repérés sur les graphiques par 4 caractères : le premier est le rang de l'année (1 = 1973, 2 = 1974, 3 = 1975), les deux suivants caractérisent l'hybride (F3 ou F9) et le dernier est pour le sexe (1 = mâle, 2 = femelle). Par exemple « 2 F 9 2 » est le point représentatif de l'observation de 1974 (année n° 2) de l'hybride F_1 n° 9 de sexe femelle (2).

De même, les points représentatifs des cueillettes seront notés C1 à C7, le chiffre étant le n° d'ordre de la cueillette.

Trois axes principaux d'inertie ont été extraits du tableau de données, ils absorbent respectivement :

Axe	Pourcentage d'inertie	Pourcentage cumulé
1	43	43
2	30	73
3	15	88

Ces trois axes absorbant ensemble près des neuf dixièmes de l'inertie (88 p. 100) des nuages à 6 (1) dimensions, nous avons estimé inutile de déterminer les axes suivants.

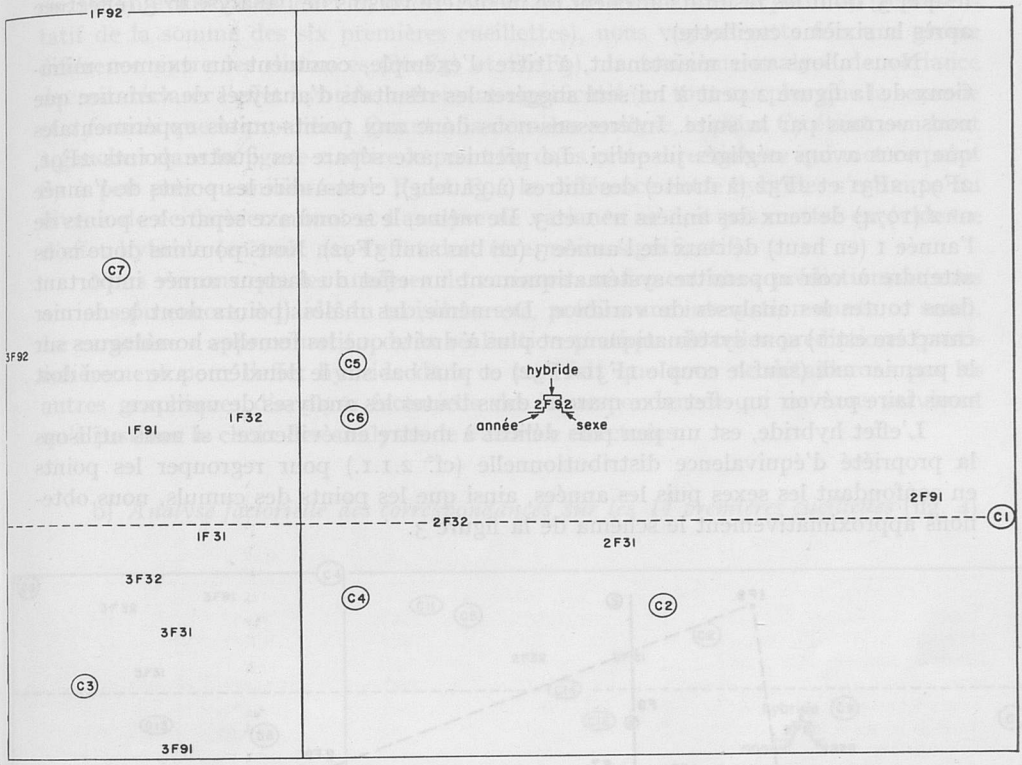


FIG. 2. — *Représentation, sur les deux premiers axes d'analyse factorielle des correspondances, des données relatives aux 7 premières cueillettes des trois années de récolte des deux hybrides n° 3 et n° 9 à Soings-en-Sologne*

Representation, on the first two factorial analysis of correspondences axes, of data pertaining to the first 7 pickings of hybrids n° 3 and n° 9 made over three years at Soings-en-Sologne

Considérons la figure 2, contenant la représentation des nuages dans le plan des deux premiers axes (représentation de 73 p. 100 de l'inertie, soit près des trois quarts). Nous pouvons constater que les points C1 et C2 sont voisins, bien à droite sur le premier axe, tandis que C3 s'en sépare nettement (à gauche) ; puis C4, C5 et C6 sont identiques vis-à-vis de ce premier axe et pas trop sévèrement séparés par le second, tandis que C7 en est éloigné à la fois par les deux axes. Nous déciderons donc d'effectuer les regroupements suivants, conduisant aux quatre analyses de variance indiquées :

Cueillette n°	1 2	3	4 5 6	7
Analyse n°	1	2	3	4

(1) Il y a 7 cueillettes, mais le total des coordonnées de chaque point étant constant (100 p. 100), cela ramène à 7 — 1 = 6 dimensions.

Nous avons ainsi évité d'effectuer trois analyses de variance : l'une dès la première cueillette, dont les résultats auraient sans doute été très voisins de l'analyse n° 1 (effectuée après la deuxième cueillette), et les deux autres, après les cueillettes n° 4 et 5, dont les résultats auraient de même été voisins de l'analyse n° 3 (effectuée après la sixième cueillette).

Nous allons voir maintenant, à titre d'exemple, comment un examen minutieux de la figure 2 peut à lui seul suggérer les résultats d'analyses de variance que nous verrons par la suite. Intéressons-nous donc aux points-unités expérimentales que nous avons négligés jusqu'ici. Le premier axe sépare les quatre points 2F91, 2F92, 2F31 et 2F32 (à droite) des autres (à gauche), c'est-à-dire les points de l'année n° 2 (1974) de ceux des années n° 1 et 3. De même, le second axe sépare les points de l'année 1 (en haut) de ceux de l'année 3 (en bas sauf 3F92). Nous pouvons donc nous attendre à voir apparaître systématiquement un effet du facteur année important dans toutes les analyses de variance. De même, les mâles (points dont le dernier caractère est 1) sont systématiquement plus à droite que les femelles homologues sur le premier axe (sauf le couple 1F31-1F32) et plus bas sur le deuxième axe : ceci doit nous faire prévoir un effet sexe marqué dans toutes les analyses de variance.

L'effet hybride, est un peu plus délicat à mettre en évidence : si nous utilisons la propriété d'équivalence distributionnelle (cf. 2.1.1.) pour regrouper les points en confondant les sexes puis les années, ainsi que les points des cumuls, nous obtenons approximativement le schéma de la figure 3.

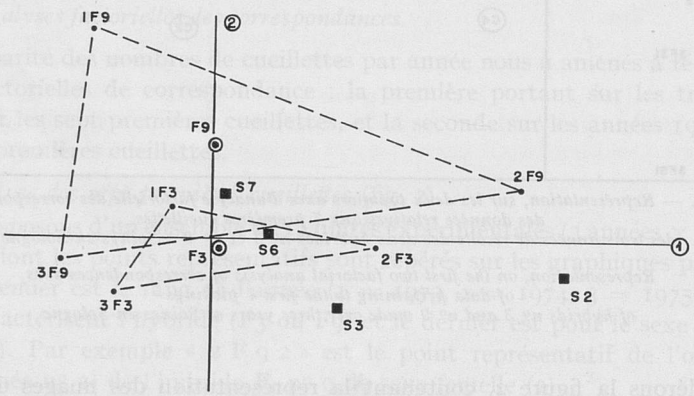


FIG. 3. — *Regroupement des points selon le principe d'équivalence distributionnelle* (cf. 2.1.1.)

Regrouping of points according to the principle of distributional equivalence (cf. 2.1.1.)

Nous voulons comparer les points F3 et F9 (points « moyens » déterminés « à l'œil » à partir des points originaux de la figure 2). Pour la première analyse de variance, utilisant C1 + C2, nous voyons que ces deux points sont éloignés tous les deux du point S2 représentatif de la somme des deux premières cueillettes (situé au centre de gravité des points C1 et C2 de la figure 2) ; la différence entre les deux distances étant faible par rapport à la distance moyenne, nous devons nous attendre à ce que la première analyse de variance ne mette pas en évidence d'effet hybride. Pour la deuxième analyse, l'examen des positions relatives des points F3, F9 et

S3 (représentatif du cumul des trois premières cueillettes) montre une amélioration possible : la différence de distances représente à peu près 50 p. 100 de la distance moyenne, ce qui nous permet de penser que la deuxième analyse de variance pourrait mettre en évidence un effet hybride. Procédant de même avec le point S6 (représentatif de la somme des six premières cueillettes), nous voyons cette fois une grosse différence entre les distances (S6-F3) et S6-F9) : la troisième analyse de variance devrait déclarer l'effet hybride nettement significatif (en tout cas plus que la seconde et *a fortiori* que la première). Quant à la dernière analyse, le point C7 étant « en haut à gauche » dans la figure 2 attire le point S7 dans cette direction, ce qui met ce point S7 à peu près au milieu entre F3 et F9 : la différence entre hybrides s'estompe au niveau de ce dernier cumul et l'analyse de variance ne doit pas mettre en évidence d'effet hybride (en tout cas l'effet doit être moins significatif).

Nous verrons que les analyses de variance confirment ces « prédictions » (nous aurions pu encore, à l'aide du troisième axe, prédire une interaction année × sexe). Le caractère « approximatif » de la réalisation pratique de telles prédictions (particulièrement pour l'effet hybride dans ce cas) fait que nous ne détaillerons pas les autres graphiques d'analyse factorielle des correspondances qui ne nous serviront qu'à justifier le choix des analyses de variance effectuées.

b) *Analyse factorielle des correspondances sur les 14 premières cueillettes* (fig. 4).

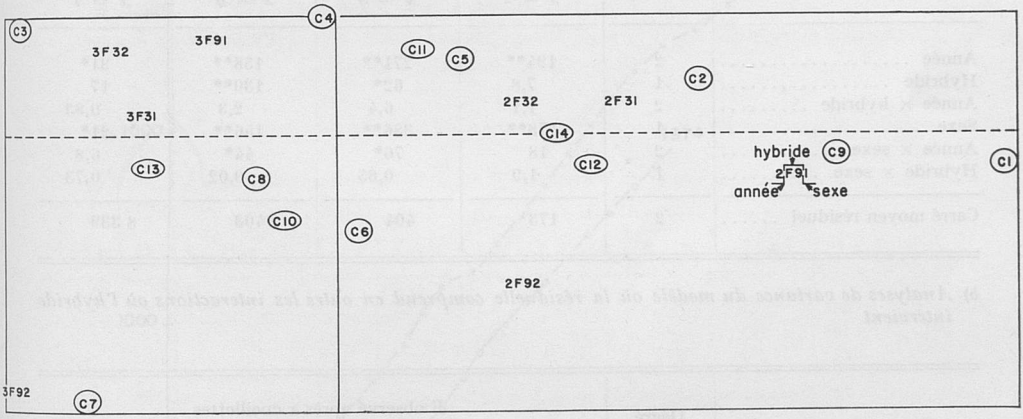


FIG. 4. — *Représentation, sur les deux premiers axes d'analyse factorielle des correspondances, des données relatives aux 14 premières cueillettes des années de récolte 1974 et 1975 des deux hybrides n° 3 et n° 9 à Soings-en-Sologne*

Representation, on the first two factorial analysis of correspondences axes, of data pertaining the first 14 pickings of 1974 and 1975 for hybrids n° 3 and n° 9 at Soings-en-Sologne

Nous ne disposons plus que de 2 années d'observation (1974 et 1975) × 2 hybrides × 2 sexes = 8 unités expérimentales, mais nous avons 13 variables. Les trois premiers axes représentent respectivement 54 p. 100, 15 p. 100 et 12 p. 100 de l'inertie totale. Un raisonnement basé sur la figure 4, semblable à celui du début du paragraphe *a*) précédent, nous amène aux regroupements et aux choix d'analyses de variance qui suivent :

Cueillette n°	1 2	3	4 5 6 7 8	9	10 11 12 13	14
Analyse n°	1	2	3	4	5	6

soit une « économie » de 14 — 6 = 8 analyses.

Remarque : nous avons à chaque fois utilisé la représentation sur le plan des axes 1 et 3 pour vérifier si nos regroupements ne devaient pas être encore éclatés pour tenir compte des disparités sur le troisième axe. Nous ne faisons pas figurer ici ces graphiques afin de ne pas alourdir la présentation.

3. 1.1.2. *Analyses de variance.*

Les résultats des quatre analyses de variance décidées au paragraphe 3. 1.1.1. *a*) et des six du paragraphe 3. 1.1.1. *b*) sont résumés dans les tableaux 1 et 2.

TABLEAU 1

Analysis of variance

a) *Analyses de variance du modèle complet :* la résiduelle est formée de la seule interaction d'ordre 2

Source de variation	Degré de liberté	F observé après x cueillettes			
		$x = 2$	$x = 3$	$x = 6$	$x = 7$
Année	2	194**	271**	158**	31*
Hybride	1	7,8	62*	130**	17
Année × hybride	2	1,1	6,4	2,3	0,83
Sexe	1	178**	386**	156**	21*
Année × sexe	2	18	76*	44*	6,8
Hybride × sexe	1	1,9	0,65	0,02	0,73
Carré moyen résiduel	2	173	404	1 403	8 339

b) *Analyses de variance du modèle où la résiduelle comprend en outre les interactions où l'hybride intervient*

Source de variation	Degré de liberté	F observé après x cueillettes			
		$x = 2$	$x = 3$	$x = 6$	$x = 7$
Année	2	157**	87**	120**	36**
Hybride	1	6,3	20**	99**	20**
Sexe	1	144**	124**	119**	24 **
Année × sexe	2	15**	25**	34**	7,8**
Carré moyen résiduel	5	213	1 255	1 836	7 323

** : Différence significative au seuil 1 p. 100.
* : Différence significative au seuil 5 p. 100.

TABLEAU 2

Analyses de variance pour le même modèle que 1 b (sur 14 cueillettes)
Analysis of variance

Source de variation	Degré de liberté	F observé après x cueillettes					
		$x = 2$	$x = 3$	$x = 8$	$x = 9$	$x = 13$	$x = 14$
Année	1	89**	31*	47**	31*	36**	107**
Hybride	1	2,3	8,6	26*	37**	37**	100**
Sexe	1	103**	94**	54**	102**	82**	359**
Année × sexe	1	0,16	24*	23*	39**	68**	252**
Carré moyen résiduel	3	343	1 730	4 547	3 136	5 146	1 489

** : Différence significative au seuil 1 p. 100.
* : Différence significative au seuil 5 p. 100.

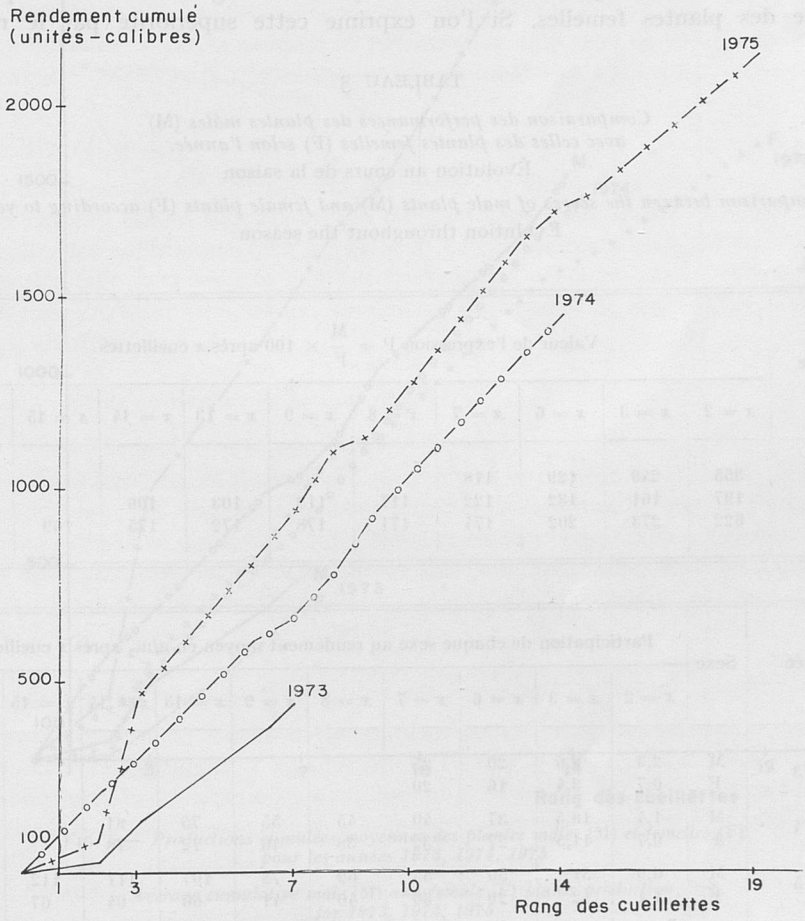


FIG. 5. — *Productions cumulées annuelles moyennes*
Average annual cumulative production

a) Effet année.

Il est hautement (1 p. 100) significatif tout au long de la récolte. La figure 5 présente les courbes de productions cumulées moyennes pour chaque année de récolte. A partir de la troisième cueillette, la production augmente d'une année sur l'autre pratiquement par addition d'une constante, que l'on reliera à l'augmentation du potentiel de production des griffes. L'évolution de la production avant la troisième cueillette est simplement liée à des différences de précocité entre années (meilleure précocité en 1974).

b) *Effet hybride.*

La supériorité de l'hybride n° 3 sur le n° 9 est, pour la production totale, de 40 p. 100, 15 p. 100 et 20 p. 100 respectivement pour les trois années. La différence n'est jugée significative qu'après la troisième cueillette : en début de saison les deux hybrides sont équivalents.

c) *Effet sexe.*

La production des plantes mâles est toujours très significativement supérieure à celle des plantes femelles. Si l'on exprime cette supériorité par le rapport

TABLEAU 3

Comparaison des performances des plantes mâles (M) *avec celles des plantes femelles* (F) *selon l'année.*
Évolution au cours de la saison

Comparison between the scores of male plants (M) *and female plants* (F) *according to years.*
Evolution throughout the season

a)

Année	Valeur de l'expression $P = \frac{M}{F} \times 100$ après x cueillettes									
	$x = 2$	$x = 3$	$x = 6$	$x = 7$	$x = 8$	$x = 9$	$x = 13$	$x = 14$	$x = 15$	$x = 19$
1973	355	249	129	118						
1974	197	161	132	122	117	118	103	106		
1975	622	273	202	174	171	178	172	175	169	167

b)

Année	Sexe	Participation de chaque sexe au rendement moyen en g/m_2 après x cueillettes									
		$x = 2$	$x = 3$	$x = 6$	$x = 7$	$x = 8$	$x = 9$	$x = 13$	$x = 14$	$x = 15$	$x = 18$
1973	M	2,3	8,6	20	25						
	F	0,7	3,4	16	20						
1974	M	1,4	18,5	37	40	45	55	75	81		
	F	0,7	11,5	27	32	38	46	72	78		
1975	M	6,9	31	50	53	69	73	107	111	112	135
	F	1,1	12	29	30	40	41	60	64	67	81

$P = \frac{M}{F} \times 100$ du rendement en unités-calibres des mâles exprimé en p. 100 de celui des femelles, on constate (tabl. 3 *a*) que cette supériorité est plus marquée en début de saison qu'à la fin, les femelles ayant tendance à rattraper le retard pris au départ : celles-ci sont beaucoup moins précoces que les mâles.

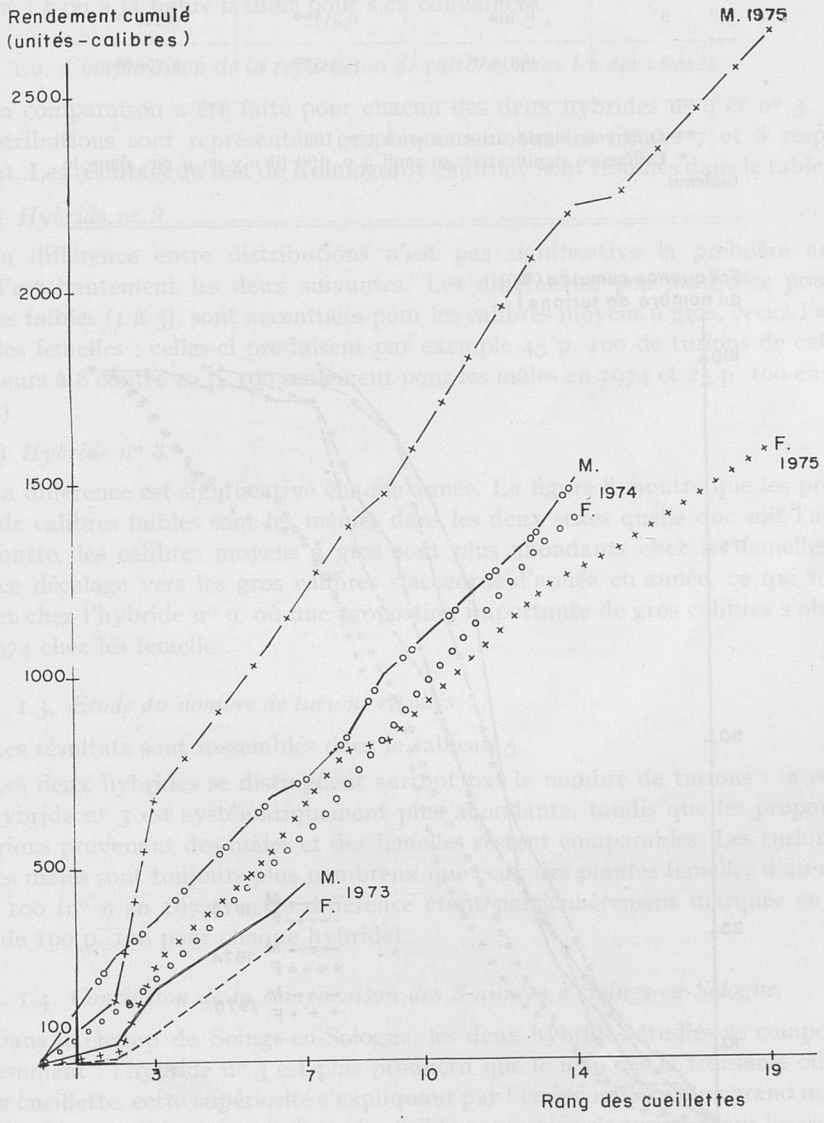


FIG. 6.— *Productions cumulées moyennes des plantes mâles* (M) *et femelles* (F) *pour les années 1973, 1974, 1975*

Average cumulative male (M) *and female* (F) *plants production, for 1973, 1974, 1975*

TABLEAU 4

Écart absolu maximal entre les fonctions de répartition des calibres des plantes mâles et femelles

Maximum absolute deviation of size distribution functions for male and female plants

N° d'hybride	1973	1974	1975
9	0,308	0,341**	0,220**
3	0,316**	0,285**	0,258**

** Différence significative au seuil 1 p. 100.

* Différence significative au seuil 5 p. 100 (il n'y en a pas dans le tableau).

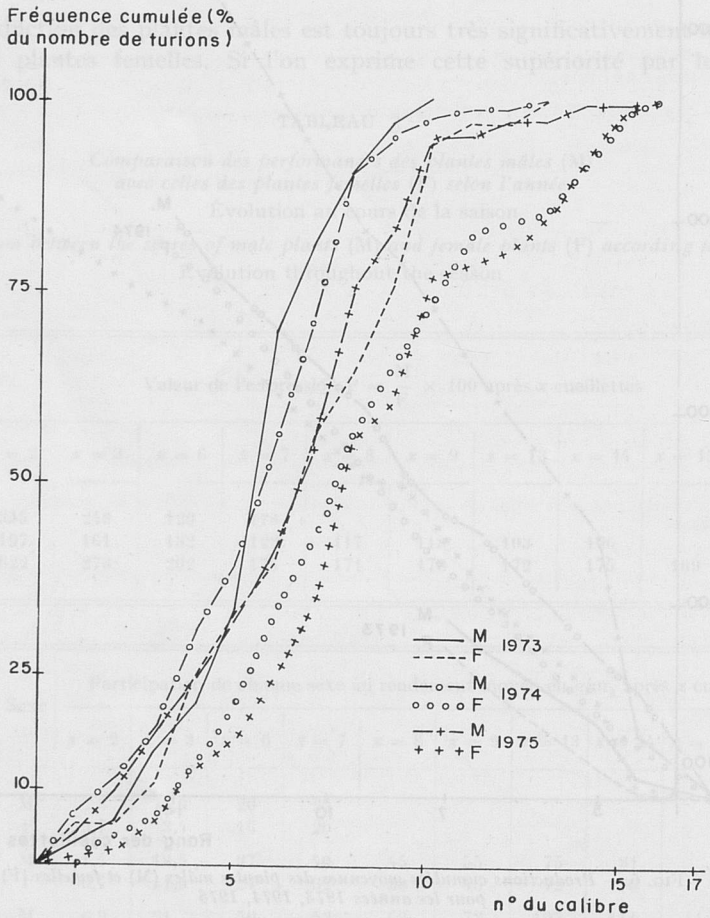


FIG. 7. — *Distributions des calibres de turions* (en fréquences cumulées) *chez les plantes mâles* (M) *et femelles* (F) *de l'hybride n° 9* (sur trois années de récolte)

Distribution of spear sizes (cumulative frequency) *in male* (M) *and female* (F) *plants of the n° 9 hybrid* (three crop years)

d) *Interaction année × sexe.*

Elle est plus significative à la fin de la saison qu'au début. Elle intervient pour moduler la remarque précédente selon les années : l'écart relatif entre mâles et femelles a tendance à diminuer tout au long de la saison, sauf pendant l'année 1975 où il stagne aux environs de $P \simeq 170$ dès la septième cueillette, l'écart absolu (mesuré par l'analyse de variance) se creusant donc cette année-là. Un coup d'œil au tableau 3 *b* ou à la figure 6 suffit pour s'en convaincre.

3. 1.2. *Comparaison de la répartition de calibres dans les deux sexes.*

La comparaison a été faite pour chacun des deux hybrides n° 9 et n° 3, dont les distributions sont représentées graphiquement sur les figures 7 et 8 respectivement. Les résultats du test de Kolmogorov-Smirnov sont résumés dans le tableau 4.

a) *Hybride n° 9.*

La différence entre distributions n'est pas significative la première année, mais l'est hautement les deux suivantes. Les différences, peu marquées pour les calibres faibles (1 à 3), sont accentuées pour les calibres moyens à gros, ceci à l'avantage des femelles : celles-ci produisent par exemple 45 p. 100 de turions de calibres supérieurs à 8 contre 10 p. 100 seulement pour les mâles en 1974 et 25 p. 100 en 1975 (fig. 7).

b) *Hybride n° 3.*

La différence est significative chaque année. La figure 8 montre que les proportions de calibres faibles sont les mêmes dans les deux sexes quelle que soit l'année. Par contre, les calibres moyens à gros sont plus abondants chez les femelles ; de plus, ce décalage vers les gros calibres s'accentue d'année en année, ce qui n'était pas net chez l'hybride n° 9, où une proportion importante de gros calibres s'observe dès 1974 chez les femelles.

3. 1.3. *Étude du nombre de turions récoltés.*

Les résultats sont rassemblés dans le tableau 5.

Les deux hybrides se distinguent surtout par le nombre de turions : la récolte de l'hybride n° 3 est systématiquement plus abondante, tandis que les proportions de turions provenant des mâles et des femelles restent comparables. Les turions des plantes mâles sont toujours plus nombreux que ceux des plantes femelles d'au moins 35 p. 100 (n° 9 en 1973), cette différence étant particulièrement marquée en 1975 (plus de 100 p. 100 pour chaque hybride).

3. 1.4. *Conclusion de la comparaison des 3 années à Soings-en-Sologne.*

Dans le champ de Soings-en-Sologne, les deux hybrides étudiés se comportent différemment : l'hybride n° 3 est plus productif que le n° 9 dès la troisième ou quatrième cueillette, cette supériorité s'expliquant par l'émission d'un plus grand nombre de turions que ne compense pas une plus faible proportion de turions dans les calibres supérieurs à 4.

En revanche, la différence entre les sexes est comparable chez les deux hybrides : les mâles sont caractérisés par une plus grande précocité, une production de turions

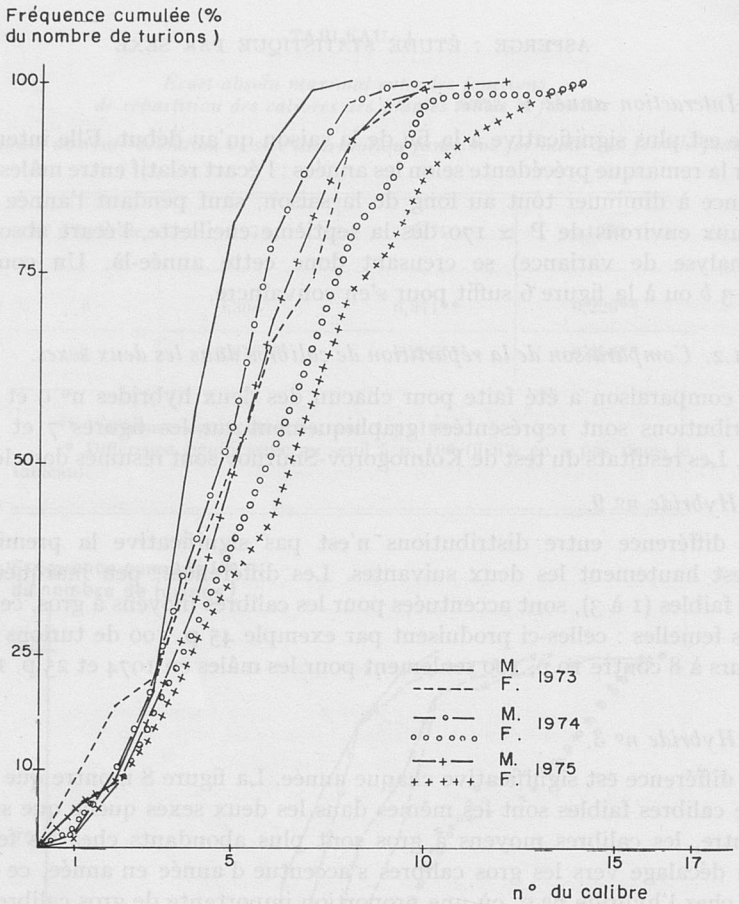


FIG. 8. — *Distributions des calibres de turions* (en fréquences cumulées) *chez les plantes mâles* (M) *et femelles* (F) *de l'hybride n° 3* (sur trois années de récolte)

Distribution of spear sizes (cumulative frequency) *in male* (M) *and female* (F) *plants of the n° 3 hybrid* (three crop years)

TABLEAU 5

Comparaison des nombres de turions produits par les plantes mâles et femelles

Comparison of the number of spears produced by male and female plants

N° d'hybride	Année	Nbre de turions produits par les		$P' = \frac{M'}{F'} \times 100$
		mâles (M')	femelles (F')	
9	1973	69	51	135
	1974	238	150	159
	1975	358	174	206
3	1973	136	87	156
	1974	327	226	144
	1975	527	242	218

plus importante, et une plus grande proportion de turions de petits calibres. La différence de rendement à l'avantage des mâles a tendance à diminuer au cours de la saison.

3. 2. — *Étude des hybrides* F_1 *n° 3 et 9 en 1975 dans les trois champs*

Les 19 cueillettes de 1975 analysées représentent la totalité de la récolte à Soings-en-Sologne et Lédenon, mais seulement la première moitié de la saison à Saint-Rémy de-Provence (où les cueillettes ont commencé plus tôt).

3. 2.1. *Évolution du rendement au cours de la saison.*

3. 2.1.1. *Analyse factorielle des correspondances.*

Nous avons 2 hybrides × 2 sexes × 3 lieux, soit un nuage de 12 points représentant les unités d'observation repérées par 4 caractères : F9 ou F3 selon l'hybride, 1 ou 2 selon le sexe (1 = mâle), et S, V ou C selon le champ (respectivement Soings, Lédenon, Saint-Rémy). Les trois premiers axes représentent 74 p. 100 de l'inertie

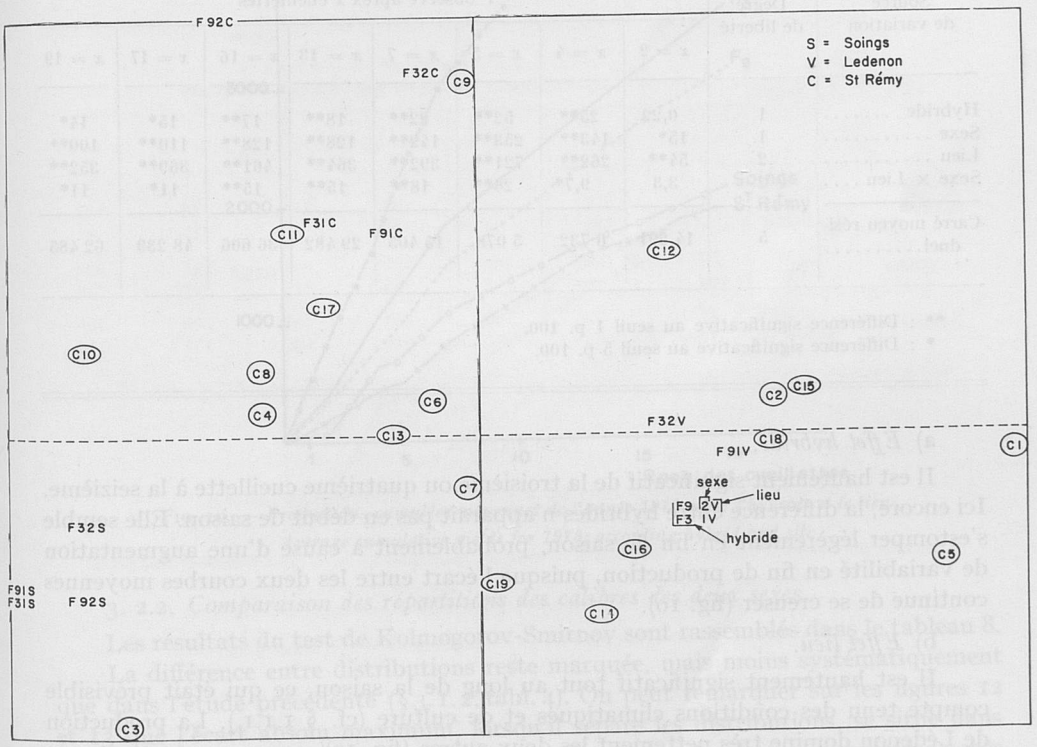


FIG. 9. — *Représentation, sur les deux premiers axes d'analyse factorielle des correspondances, des données relatives à la récolte 1975 des hybrides n° 3 et n° 9 dans trois champs d'essais*

Representation, on the first two factorial analysis of correspondences axes, of data pertaining to the 1975 crop year, for hybrids n° 3 and n° 9, in three fields

totale des axes. L'examen des représentations dans le plan des deux premiers axes (fig. 9) et des axes 1 et 3 nous a conduits aux regroupements de cueillettes et donc aux choix d'analyses de variance qui suivent :

Cueillette n°	1 2	3 4	5	6 7	8 9 10 11 12 13	14 15 16	17	18 19
Analyse n°	1	2	3	4	5	6	7	8

(économie de 19 — 8 = 11 analyses superflues).

3. 2.1.2. *Analyse de variance.*

Le tableau 6 présente les résultats des 8 analyses de variance.

TABLEAU 6

Étude des cueillettes de 1975 dans les trois champs : analyses de variance du modèle où la résiduelle comprend toutes les interactions où l'hybride intervient

Study of 1975 pickings in the three fields : variance analysis

Source de variation	Degré de liberté	F observé aprèx x cueillettes							
		$x = 2$	$x = 4$	$x = 5$	$x = 7$	$x = 13$	$x = 16$	$x = 17$	$x = 19$
Hybride	1	0,22	25**	52**	22**	18**	17**	15*	14*
Sexe	1	15*	143**	253**	149**	128**	128**	110**	100**
Lieu	2	54**	262**	721**	392**	364**	461**	369**	352**
Sexe × Lieu	2	3,3	9,7*	26**	18**	15**	15**	11*	11*
Carré moyen résiduel.....	5	14 291	6 732	5 078	15 405	29 482	36 606	48 239	62 485

** : Différence significative au seuil 1 p. 100.
* : Différence significative au seuil 5 p. 100.

a) *Effet hybride.*

Il est hautement significatif de la troisième ou quatrième cueillette à la seizième. Ici encore, la différence entre hybrides n'apparaît pas en début de saison. Elle semble s'estomper légèrement en fin de saison, probablement à cause d'une augmentation de variabilité en fin de production, puisque l'écart entre les deux courbes moyennes continue de se creuser (fig. 10).

b) *Effet lieu.*

Il est hautement significatif tout au long de la saison, ce qui était prévisible compte tenu des conditions climatiques et de culture (cf. § 1.1.1.). La production de Lédenon domine très nettement les deux autres (fig. 10).

c) *Effet sexe et interaction sexe × lieu.*

Significatif à 5 p. 100 pour les deux premières cueillettes, l'effet sexe le devient beaucoup plus nettement dans toute la suite de la saison. L'examen des tableaux 7 *a*

et *b* confirme l'analyse de l'effet sexe dans l'étude des résultats de Soings-en-Sologne sur les trois années : on peut à nouveau vérifier que les mâles sont plus précoces et plus productifs, les femelles comblant une partie de leur retard en cours de saison. L'interaction sexe × lieu intervient pour moduler la différence entre sexes selon les lieux : il est clair sur la figure 11 que cette différence est plus forte à Lédenon que dans les deux autres champs.

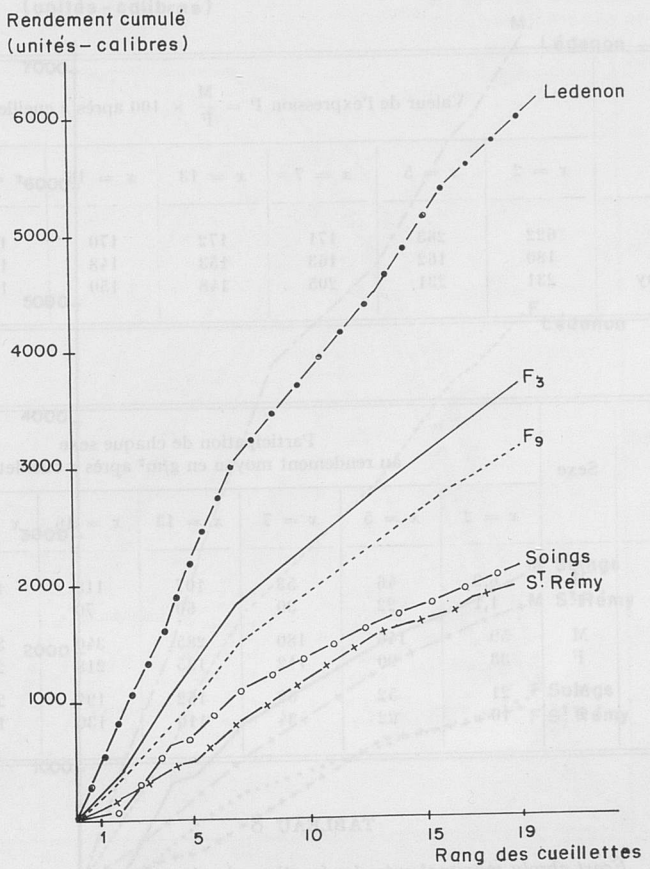


FIG. 10. — *Productions cumulées moyennes de l'année 1975 selon l'hybride et le lieu*
Average cumulative yields for 1975, according hybrid and site

3. 2.2. *Comparaison des répartitions des calibres des deux sexes.*

Les résultats du test de Kolmogorov-Smirnov sont rassemblés dans le tableau 8.

La différence entre distributions reste marquée, mais moins systématiquement que dans l'étude précédente (§ 3.1.2, tabl. 4). On peut remarquer sur les figures 12 et 13 que l'écart absolu maximum, lorsqu'il sépare les distributions, se situe dans les calibres supérieurs à 5 : les femelles fournissent une plus forte proportion de gros calibres. Chez l'hybride n° 3, les courbes de fréquences cumulées ne s'écartent qu'à partir du calibre 5, tandis qu'un écart apparaît dès les calibres 2 ou 3 pour l'hybride n° 9.

TABLEAU 7

Comparaison des performances des plantes mâles (M) *avec celles des plantes femelles* (F) *selon le lieu de production.*

Évolution au cours de la saison

Comparison between scores of male (M) *and female* (F) *plants according to production site.*

Evolution throughout the seasons

a)

Lieu	Valeur de l'expression $P = \frac{M}{F} \times 100$ après x cueillettes						
	$x = 2$	$x = 5$	$x = 7$	$x = 13$	$x = 16$	$x = 17$	$x = 19$
Soings	622	263	171	172	170	168	167
Lédenon	180	162	163	153	148	149	149
Saint-Rémy	231	231	205	148	150	157	156

b)

Lieu	Sexe	Participation de chaque sexe au rendement moyen en g/m² après x cueillettes						
		$x = 2$	$x = 5$	$x = 7$	$x = 13$	$x = 16$	$x = 17$	$x = 19$
Soings	M	6,9	46	53	107	118	123	135
	F	1,1	22	30	60	70	74	81
Lédenon	M	59	146	180	285	340	345	382
	F	33	90	112	185	218	233	256
Saint Rémy	M	21	52	69	162	194	200	220
	F	10	22	34	110	130	131	140

TABLEAU 8

Écart absolu maximal entre les fonctions de répartition des calibres des plantes mâles et femelles

Maximum absolute deviation between distribution functions of male and female plant sizes

N° d'hybride	Soings	Lédenon	Saint-Rémy
N° 9	0,220**	0,083	0,260**
N° 3	0,258**	0,100**	0,084

** Différence significative au seuil 1 p. 100.

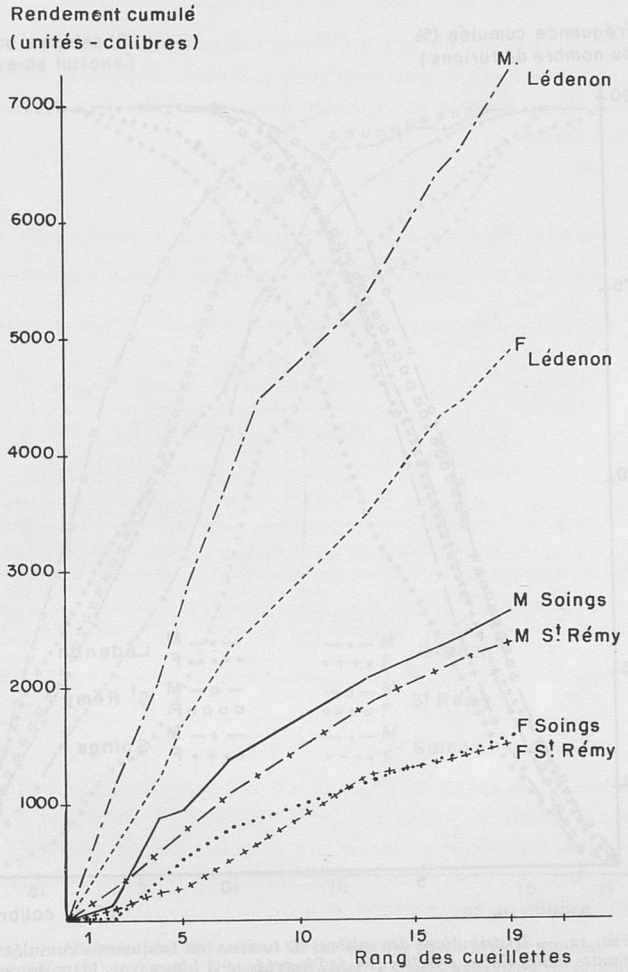


FIG. 11. — *Productions cumulées moyennes des plantes* (M) *et* (F) *dans chaque champ d'essai* (récolte 1975)

Average cumulative yields of (M) *and* (F) *plants in each test field* (1975 crop year)

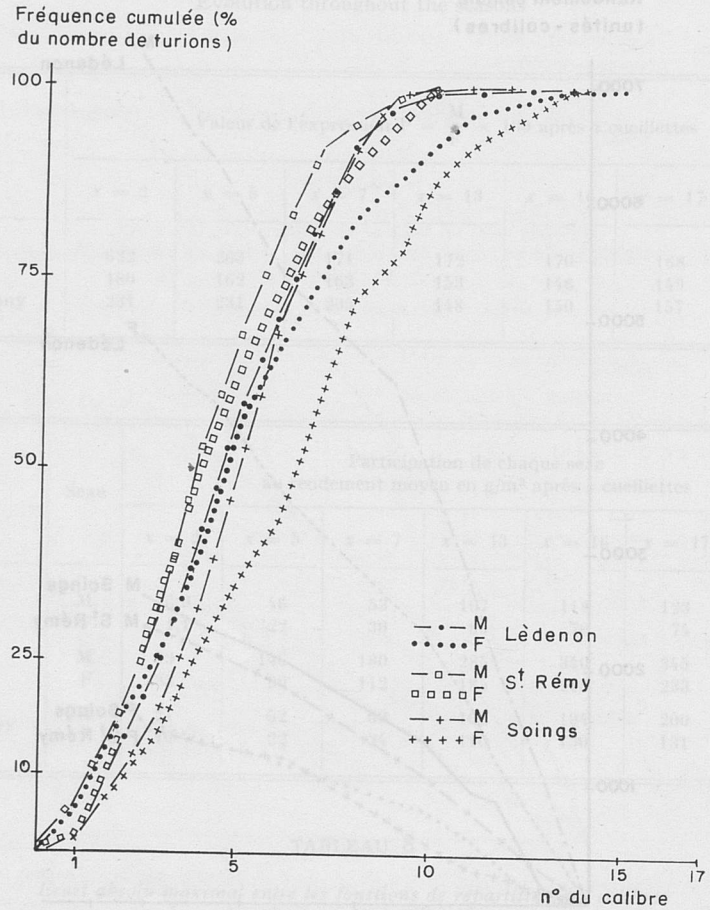


FIG. 12. — *Distributions des calibres de turions* (en fréquences cumulées) *chez les plantes mâles* (M) *et femelles* (F) *de l'hybride n° 3* (dans trois lieux de production)

Distributions of spear sizes (cumulative frequency) *in male* (M) *and female* (F) *n° 3 hybrid plants* (three production sites)

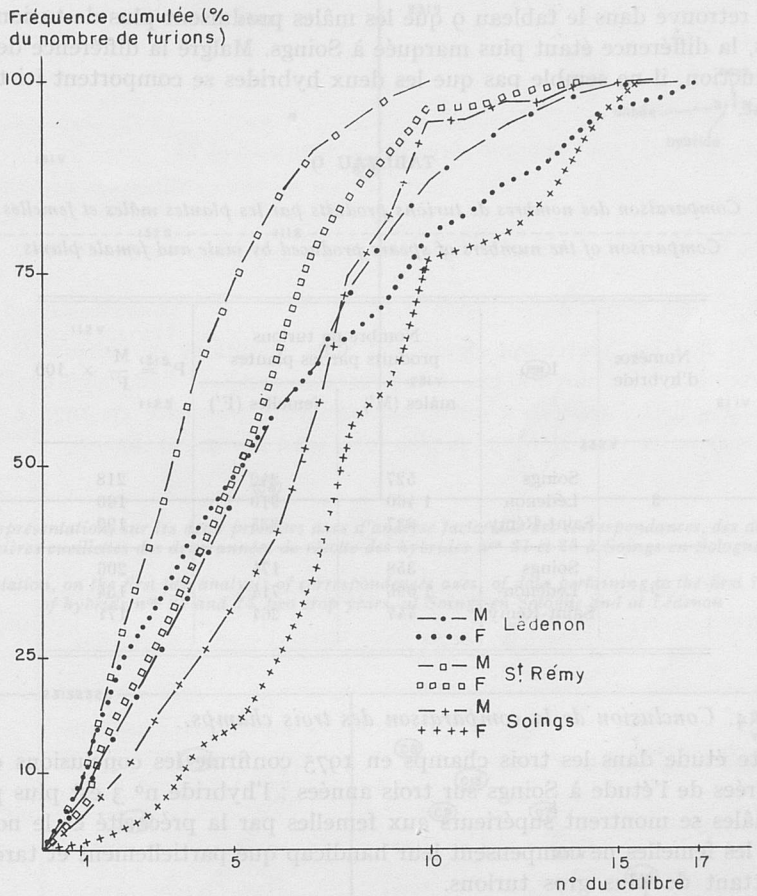


FIG. 13. — *Distributions des calibres de turions* (en fréquences cumulées) *chez les plantes mâles* (M) *et femelles* (F) *de l'hybride n° 9* (dans trois lieux de production)

Distribution of spear sizes (cumulative frequency) *in male* (M) *and female* (F) *n° 9 hybrids plants* (three production sites)

On peut voir d'autre part que, pour les deux hybrides, l'essai de Saint-Rémy donne les distributions les moins étalées, les calibres petits étant très représentés : ceci est lié au fait que l'exploitation y est plus intensive (rappelons que les données analysées ne concernent que la première moitié de la saison de cet essai).

3. 2.3. *Étude du nombre total de turions récoltés.*

On retrouve dans le tableau 9 que les mâles produisent plus de turions que les femelles, la différence étant plus marquée à Soings. Malgré la différence de niveaux de production, il ne semble pas que les deux hybrides se comportent ici très différemment.

TABLEAU 9

Comparaison des nombres de turions produits par les plantes mâles et femelles

Comparison of the numbers of spears produced by male and female plants

Numéro d'hybride	Lieu	Nombre de turions produits par les plantes		$P' = \frac{M'}{F'} \times 100$
		mâles (M')	femelles (F')	
3	Soings	527	242	218
	Lédenon	1 460	910	160
	Saint-Rémy	637	335	190
9	Soings	358	174	206
	Lédenon	1 096	714	154
	Saint-Rémy	447	261	171

3. 2.4. *Conclusion de la comparaison des trois champs.*

Cette étude dans les trois champs en 1975 confirme les conclusions que nous avons tirées de l'étude à Soings sur trois années : l'hybride n° 3 est plus productif et les mâles se montrent supérieurs aux femelles par la précocité et le nombre de turions, les femelles ne compensent leur handicap que partiellement et tardivement en émettant de plus gros turions.

3. 3. — *Étude des hybrides n° 21 et 23 à Soings-en-Sologne et Lédenon en 1974 et 1975*

3. 3.1. *Évolution du rendement au cours de la saison.*

3. 3.1.1. *Analyse factorielle des correspondances.*

Les nombres inégaux de cueillettes des deux années (7 en 1974, 14 en 1975), nous ont conduits (comme au § 3. 1) à opérer deux analyses factorielles de correspondance, dont les représentations principales sont données par les figures 14 et 15. Pour l'analyse des sept premières cueillettes des deux années, les regroupements que nous en avons tirés sont les suivants :

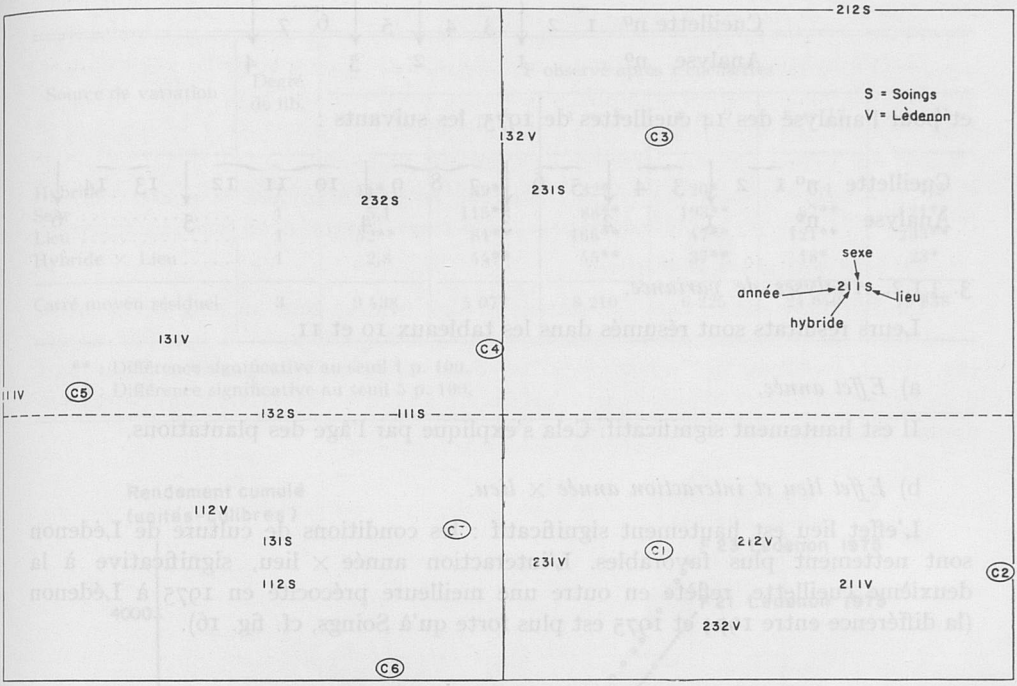


FIG. 14. — *Représentation, sur les deux premiers axes d'analyse factorielle des correspondances, des données relatives aux 7 premières cueillettes des deux années de récolte des hybrides nos 21 et 23 à Soings-en-Sologne et Lédenon*

Representation, on the first two analysis of correspondences axes, of data pertaining to the first 7 pickings of hybrids nos 21 and 23, two crop years, at Soings-en-Sologne and at Lédenon

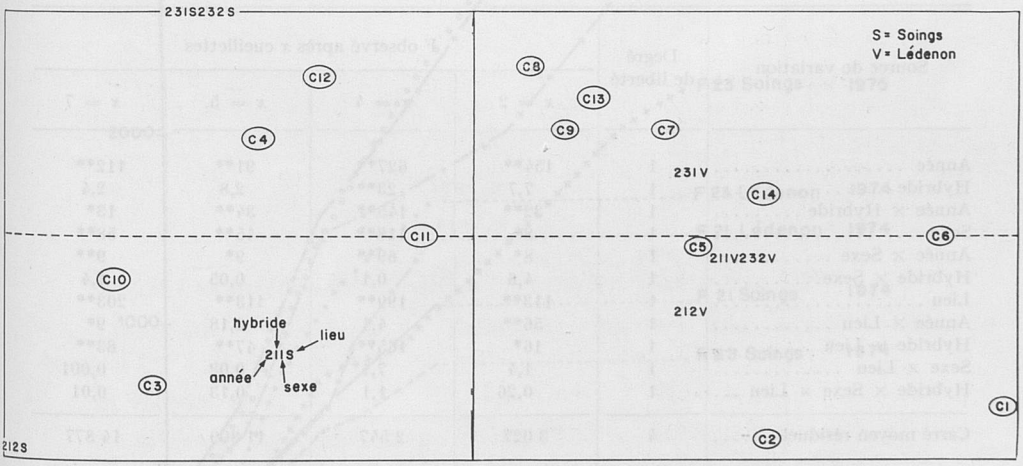
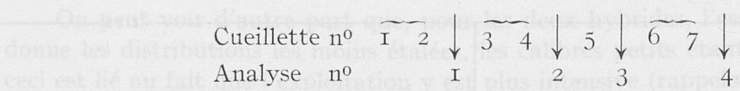
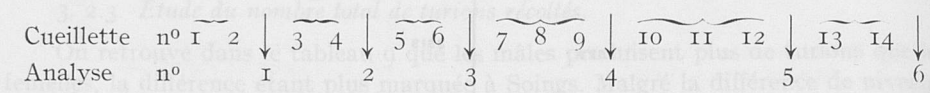


FIG. 15. — *Représentation, sur les deux premiers axes d'analyse factorielle des correspondances, des données de 1975 des hybrides nos 21 et 23 à Soings-en-Sologne et à Lédenon*

Representation, on the first two analysis of correspondences axes, of data for 1975 of hybrids nos 21 and 23 at Soings-en-Sologne and at Lédenon



et pour l'analyse des 14 cueillettes de 1975, les suivants :



3. 3.1.2. *Analyses de variance.*

Leurs résultats sont résumés dans les tableaux 10 et 11.

a) *Effet année.*

Il est hautement significatif. Cela s'explique par l'âge des plantations.

b) *Effet lieu et interaction année × lieu.*

L'effet lieu est hautement significatif : les conditions de culture de Lédenon sont nettement plus favorables. L'interaction année × lieu, significative à la deuxième cueillette, reflète en outre une meilleure précocité en 1975 à Lédenon (la différence entre 1974 et 1975 est plus forte qu'à Soings, cf. fig. 16).

TABLEAU 10

Analyses de variance sur les 7 premières cueillettes des deux années

Analysis of variance for the first 7 pickings made over two years

Source de variation	Degré de liberté	F observé après x cueillettes			
		$x = 2$	$x = 4$	$x = 5$	$x = 7$
Année	1	154**	627**	91**	112**
Hybride	1	7,7	23**	2,8	2,4
Année × Hybride	1	32**	145**	34**	13*
Sexe	1	8*	118**	45**	58**
Année × Sexe	1	8*	69**	9*	9**
Hybride × Sexe	1	4,6	0,1	0,05	1,4
Lieu	1	113**	199**	113**	203**
Année × Lieu	1	56**	4,1	0,18	9*
Hybride × Lieu	1	16*	165**	47**	83**
Sexe × Lieu	1	1,4	7,1	0,02	0,001
Hybride × Sexe × Lieu	1	0,26	1,1	0,13	0,01
Carré moyen résiduel	4	3 027	2 547	11 809	14 877

** Différence significative au seuil 1 p. 100.
* Différence significative au seuil 5 p. 100.

TABLEAU II

Analyses de variance sur les 14 cueillettes de 1975

Analysis of variance for the 14 pickings made in 1975

Source de variation	Degré de lib.	F observé après x cueillettes					
		$x = 2$	$x = 4$	$x = 6$	$x = 9$	$x = 12$	$x = 14$
Hybride	1	11*	89**	32*	20*	5,1	4,2
Sexe	1	5,1	115**	88**	193**	67**	121**
Lieu	1	52**	81**	166**	47**	121**	233**
Hybride × Lieu	1	2,8	44**	45**	37**	18*	23*
Carré moyen résiduel	3	9 438	4 077	8 210	6 225	24 640	19 838

** : Différence significative au seuil 1 p. 100.
* : Différence significative au seuil 5 p. 100.

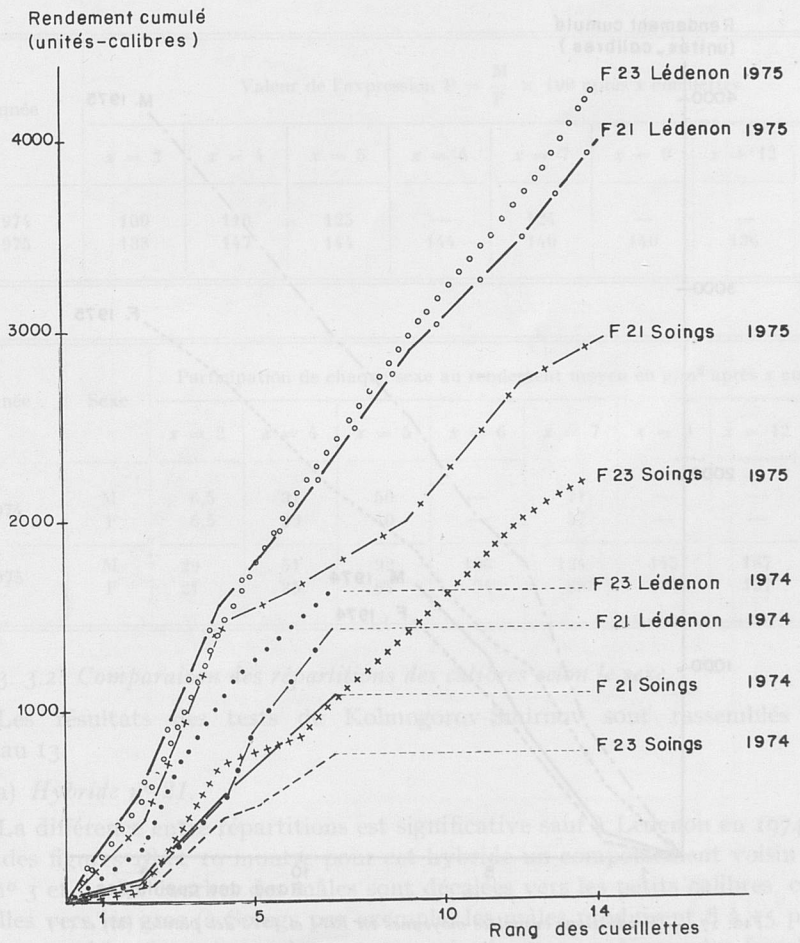


FIG. 16. — *Productions cumulées moyennes en 1974 et 1975 des hybrides n° 21 et n° 23 dans deux champs d'essai*

Average cumulative yields of hybrids n° 21 and n° 23 in two test fields for 1974 and 1975

c) *Effet hybride et ses interactions avec année et lieu.*

L'effet hybride n'est « vraiment » significatif qu'à la quatrième cueillette, ce qui traduit une meilleure précocité du n° 21. L'interaction avec le lieu apparaît nettement sur la figure 16 : le n° 23 est plus productif que le 21 à Lédenon et le rapport s'inverse à Soings. Quant à l'interaction avec l'année, elle intervient pour préciser que, avant la septième cueillette, la différence entre hybrides est nettement plus marquée en 1975 qu'en 1974.

d) *Effet sexe et ses interactions.*

La différence entre sexes est nettement significative tout au long de la saison (sauf pour les deux premières cueillettes), à l'avantage des mâles une fois encore (fig. 17). L'évolution des rendements des deux sexes est comparable, d'une part d'un hybride à l'autre, d'autre part d'un champ à l'autre (les interactions correspondantes n'étant jamais significatives).

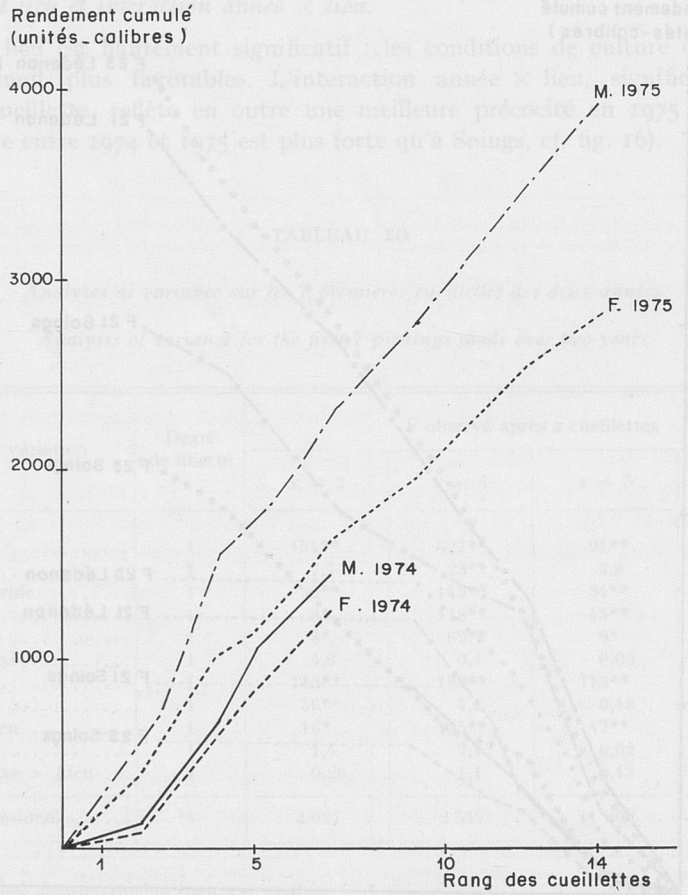


FIG. 17. — *Productions cumulées moyennes en 1974 et 1975 des plantes* (M) *et* (F)

Average cumulative yields of (M) *and* (F) *plants in 1974 and 1975*

Par contre, l'interaction année × sexe significative surtout à la quatrième cueillette, montre que la supériorité des mâles est plus forte en 1975 qu'en 1974. Les tableaux 12 (*a* et *b*) nous permettent de remarquer une différence de comportement avec les hybrides n° 3 et 9 précédemment étudiés : alors que, pour ces hybrides, le rapport des productions des plantes mâles à celles des plantes femelles diminuait au cours de la saison, indiquant une compensation relative du retard des femelles (l'écart absolu se stabilisant), nous pouvons voir ici que l'écart relatif reste quasi constant au cours de la saison (l'écart absolu se creusant donc).

TABLEAU 12

Comparaison des performances des plantes mâles (M) *avec celles des plantes femelles* (F) *selon l'année.*
Évolution au cours de la saison

Comparison between scores of male (M) *and female* (F) *plants according to the year.*
Evolution throughout the season

a)

Année	Valeur de l'expression $P = \frac{M}{F} \times 100$ après x cueillettes							
	$x = 2$	$x = 4$	$x = 5$	$x = 6$	$x = 7$	$x = 9$	$x = 12$	$x = 14$
1974	100	110	125	—	124	—	—	—
1975	138	147	144	144	140	140	136	139

b)

Année	Sexe	Participation de chaque sexe au rendement moyen en g/m² après x cueillettes							
		$x = 2$	$x = 4$	$x = 5$	$x = 6$	$x = 7$	$x = 9$	$x = 12$	$x = 14$
1974	M	6,5	31	50	—	71	—	—	—
	F	6,5	29	40	—	57	—	—	—
1975	M	29	51	92	106	124	145	187	213
	F	21	35	64	74	88	104	137	154

3. 3.2. *Comparaison des répartitions des calibres selon le sexe.*

Les résultats des tests de Kolmogorov-Smirnov sont rassemblés dans le tableau 13.

a) *Hybride n° 21.*

La différence entre répartitions est significative sauf à Lédenon en 1974. L'examen des figures 18 et 19 montre pour cet hybride un comportement voisin de celui des n° 3 et 9 : les courbes des mâles sont décalées vers les petits calibres, celles des femelles vers les gros (à Soings par exemple, les mâles produisent 8 à 15 p. 100 de calibres supérieurs ou égaux à 7, contre près de 40 p. 100 pour les femelles). On

TABLEAU 13

Écart absolu maximal entre les fonctions de répartition des calibres des plantes mâles et femelles

Maximum absolute deviation between distribution functions of male and female plant sizes

N° de l'hybride	1974		1975	
	Soings	Lédenon	Soings	Lédenon
21	0,297**	0,129	0,247**	0,157**
23	0,120	0,083	0,118	0,107**

** Différence significative au seuil 1 p. 100.

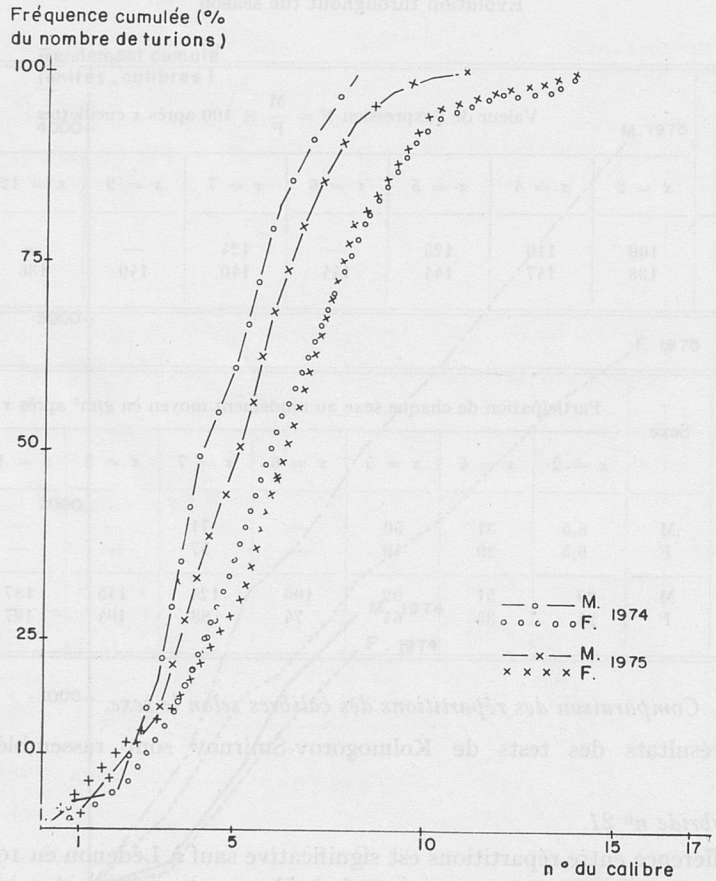


FIG. 18. — *Distributions des calibres de turions* (en fréquences cumulées) *chez les plantes mâles* (M) *et femelles* (F) *de l'hybride n° 21 à Soings-en-Sologne* (sur deux années de récolte)

Distribution of spear sizes (cumulative frequency) *in male* (M) *and female* (F) *plants of the n° 21 hybrid at Soings-en-Sologne over two crop years*

remarquera en outre qu'à Lédenon, il semble se produire, entre 1974 et 1975, un décalage vers les petits calibres, en sens contraire de celui que nous observons pour les n° 3 et 9, et pour les courbes des mâles du n° 21 à Soings.

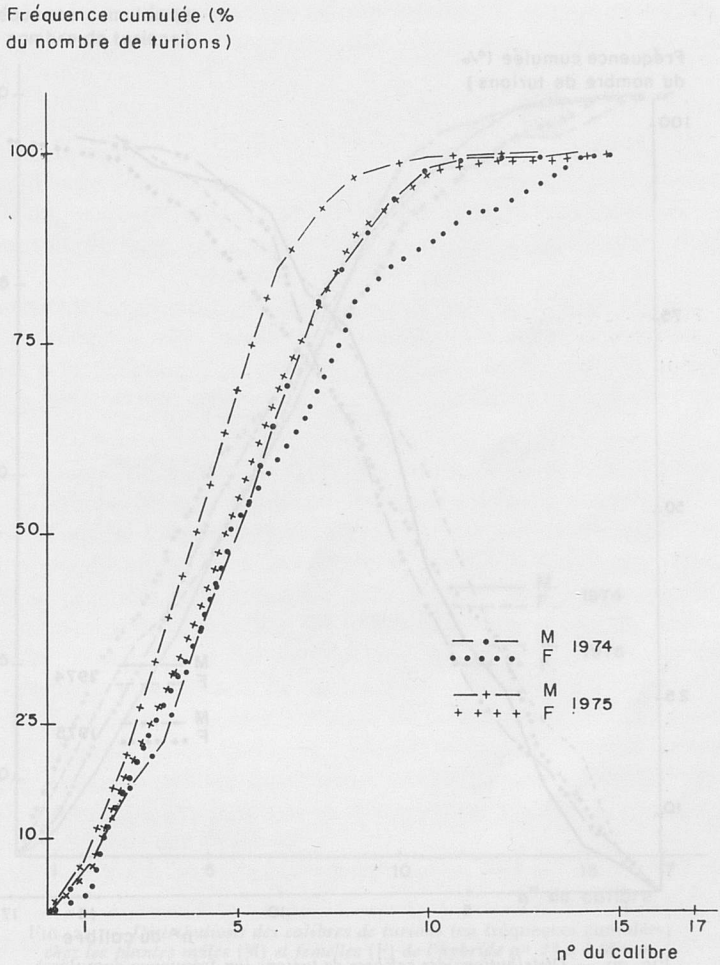


FIG. 19. — *Distributions des calibres de turions* (en fréquences cumulées) *chez les plantes mâles* (M) *et femelles* (F) *de l'hybride n° 21 à Lédenon* (sur deux années de récolte)

Distribution of spear sizes (cumulative frequency) *in male* (M) *and female* (F) *plants of the n° 21 hybrid at Lédenon over two crop years*

b) *Hybride n° 23.*

La différence entre sexes n'est significative qu'en 1975 et à Lédenon. L'originalité de ce n° 23 par rapport aux autres réside dans la position de l'écart maximum : ce sont les petits calibres qui font la différence. Les calibres moyens des mâles et des femelles semblent comparables, mais les femelles produisent une plus forte proportion des calibres éloignés de la moyenne (vers les faibles calibres mais aussi vers les gros calibres) (fig. 20 et 21).

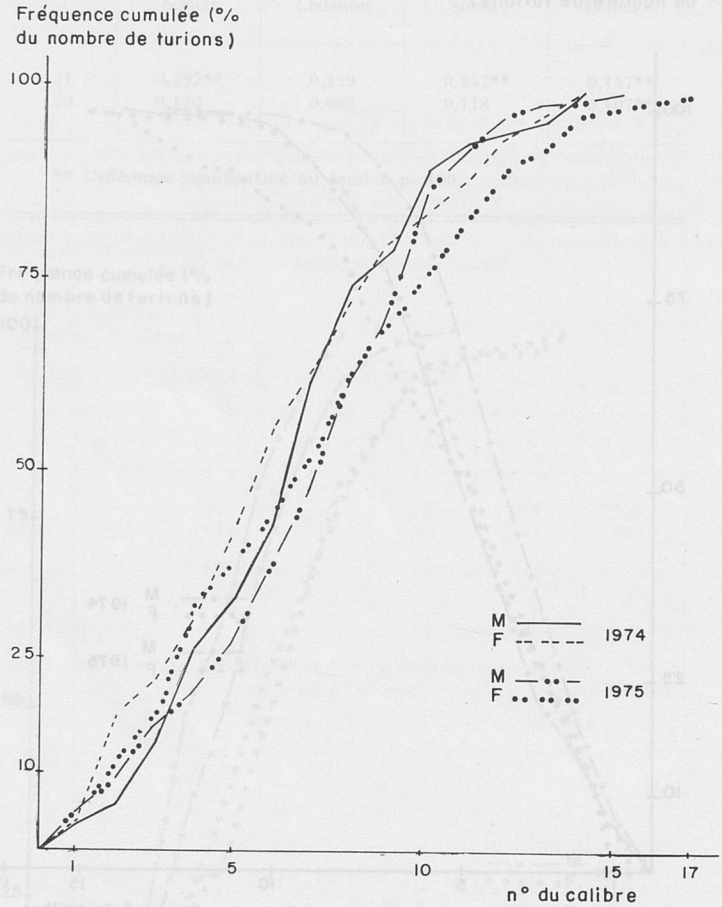


FIG. 20. — *Distributions des calibres de turions* (en fréquence cumulées) *chez les plantes mâles* (M.) *et femelles* (F.) *de l'hybride n° 23 à Soings-en-Sologne* (sur deux années de récolte)

Distribution of spear sizes (cumulative frequency) *in male* (M) *and female* (F) *plants of the n° 23 hybrid at Soings-en-Sologne over two crop years*

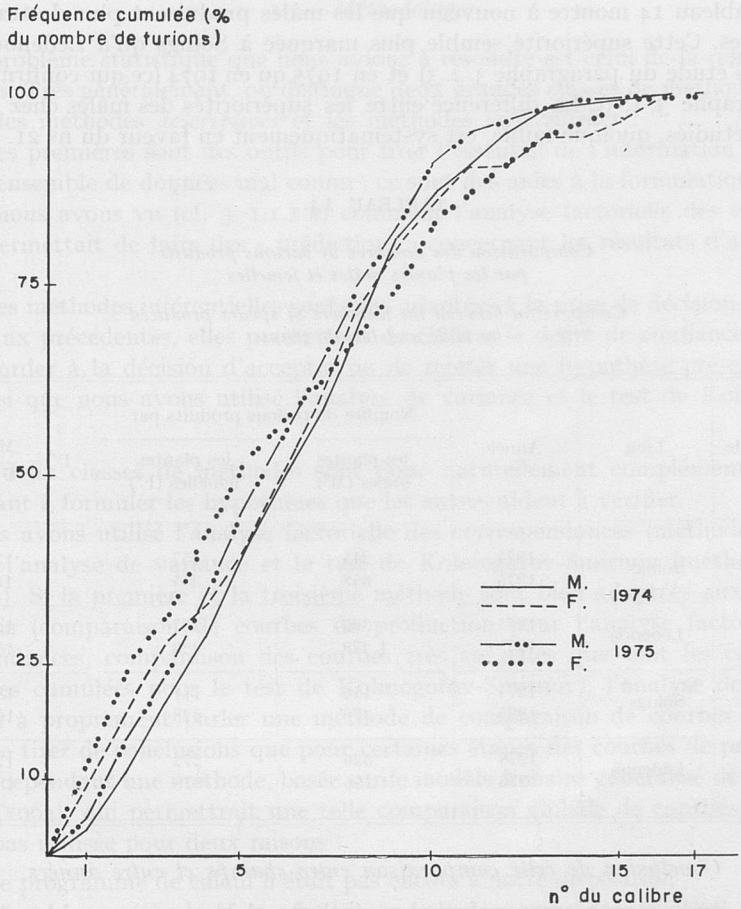


FIG. 21. — *Distributions des calibres de turions* (en fréquences cumulées) *chez les plantes mâles* (M) *et femelles* (F) *de l'hybride n° 23 à Lédenon* (sur deux années de récolte)

Distribution of spear sizes (cumulative frequency) *in male* (M) *and female* (F) *plants of the n° 23 hybrid at Lédenon over two crop years*

On remarquera par ailleurs que les courbes du n° 23 sont plus étalées que celles du n° 21 : ce dernier produit en moyenne de plus petits turions.

3. 3.3. *Étude du nombre total de turions récoltés.*

Le tableau 14 montre à nouveau que les mâles produisent plus de turions que les femelles. Cette supériorité semble plus marquée à Soings qu'à Lédenon (ce qui confirme l'étude du paragraphe 3. 2. 3) et en 1975 qu'en 1974 (ce qui confirme l'étude du paragraphe 3. 1. 3). La différence entre les supériorités des mâles chez les deux hybrides étudiés, quoique faible, est systématiquement en faveur du n° 21.

TABLEAU 14

Comparaison des nombres de turions produits par les plantes mâles et femelles

Comparison between the numbers of spears produced by male and female plants

N° d'hybride	Lieu	Année	Nombre de turions produits par		$P' = \frac{M'}{F'} \times 100$
			les plantes mâles (M')	les plantes femelles (F')	
21	Soings	1974	214	157	136
		1975	648	354	183
	Lédenon	1974	305	237	129
		1975	1 378	923	149
23	Soings	1974	146	111	132
		1975	370	228	162
	Lédenon	1974	326	272	120
		1975	1 146	878	131

3. 3.4. *Conclusion de cette comparaison entre champs et entre années.*

Cette étude montre que malgré des résultats globaux comparables, l'hybride n° 23 se comporte différemment du n° 21, dont le comportement peut se rattacher à celui des n° 3 et 9 précédemment étudiés. Le n° 23 se distingue des autres en particulier par :

— une moins bonne précocité (§ 3. 3.1.2 *c*) ;

— la production de turions plus gros et en moins grande quantité (§ 3. 3.3. et 3. 3.1.2 *c*) ;

— une différence de comportement entre sexes caractérisée non plus par un calibre moyen supérieur, mais par une dispersion plus grande autour du calibre moyen chez les femelles (§ 3. 3.2).

Quant à l'hybride 21, il se distingue des n° 3 et 9 par le fait que la supériorité des mâles pour le rendement augmente en valeur absolue au cours de la saison (alors qu'il y avait un rattrapage — partiel — par les femelles des n° 3 et 9).

CONCLUSION GÉNÉRALE

1. — *Méthodologie*

Le problème statistique que nous avions à résoudre est celui de la *comparaison de courbes*. Très généralement, on distingue deux grandes classes de méthodes statistiques : les méthodes *descriptives* et les méthodes *inférentielles* :

— les premières sont des outils pour tirer l'essentiel de l'information contenue dans un ensemble de données mal connu ; ce sont des aides à la formulation d'hypothèses : nous avons vu (cf. 3. 1.1.1 *a*) comment l'analyse factorielle des correspondances permettait de faire des « prédictions » concernant les résultats d'analyse de variance.

— les méthodes inférentielles sont plus adaptées à la prise de décision : contrairement aux précédentes, elles permettent de chiffrer le degré de confiance que l'on peut accorder à la décision d'accepter ou de rejeter une hypothèse pré-existante : c'est ainsi que nous avons utilisé l'analyse de variance et le test de Kolmogorov-Smirnov.

Ces deux classes de méthodes sont donc naturellement complémentaires, les unes aidant à formuler les hypothèses que les autres aident à vérifier.

Nous avons utilisé l'analyse factorielle des correspondances (méthode descriptive), et l'analyse de variance et le test de Kolmogorov-Smirnov (méthodes inférentielles). Si la première et la troisième méthode sont bien adaptées aux objectifs poursuivis (comparaison de courbes de production pour l'analyse factorielle des correspondances, comparaison des courbes très spéciales que sont les courbes de fréquences cumulées pour le test de Kolmogorov-Smirnov), l'analyse de variance n'est pas à proprement parler une méthode de comparaison de courbes : elle n'a permis de tirer de conclusions que pour certaines étapes des courbes de production. Il existe cependant une méthode, basée sur le modèle linéaire généralisé de Pothoff et Roy (1964), qui permettrait une telle comparaison globale de courbes. Nous ne l'avons pas utilisée pour deux raisons :

— le programme de calcul n'était pas encore à notre disposition ;

— c'est une méthode bien adaptée au cas de nombreuses courbes (plusieurs dizaines) échantillonnées sur un petit nombre d'abscisses (de l'ordre d'une dizaine), ce qui n'était pas notre cas. Nous pensons reprendre l'étude avec cet outil lorsqu'il sera disponible, mais plus pour montrer ses possibilités que pour obtenir des résultats plus fins que ceux auxquels nous avons abouti.

Pour la comparaison des courbes de production, nous avons donc utilisé conjointement l'analyse factorielle des correspondances et l'analyse de variance. Il est intéressant de noter que nous avons ainsi fait déborder chaque méthode de son cadre « descriptif » ou « inférentiel » : nous avons bel et bien utilisé l'analyse factorielle des correspondances pour prendre la *décision* de choisir les étapes où procéder aux analyses de variance, de même que la comparaison des analyses de variance d'une même série nous a permis la *description* du déroulement de la production dans le temps.

Ces méthodes descriptives et inférentielles (utilisées comme telles ou, parfois, en débordant de leur cadre habituel) nous ont permis une étude efficace de quatre hybrides F_1 observés en divers lieux et au cours de diverses années.

2. — *Résultats*

Les conclusions auxquelles nous aboutissons confirment, dans leur ensemble, les résultats publiés en 1969, bien que ceux-ci proviennent d'une étude moins détaillée et effectuée sur un matériel complètement différent de celui utilisé ici.

Pour ne considérer que l'aspect envisagé dans la deuxième partie, c'est-à-dire le comportement respectif des plantes mâles et des plantes femelles de quatre hybrides F_1, on peut retenir les résultats suivants, observés par rapport à la « forme normale » du même hybride :

— la « version mâle » du n° 9 apporterait, en général, une meilleure précocité et, en troisième année de récolte, une supériorité de production de 25 à 35 p. 100. C'est un avantage considérable, mais qui se ferait au détriment du calibre des turions (70 p. 100 des turions seraient inférieurs à 22 mm) ;

— chez le n° 3, on aurait les mêmes résultats avec une perte de calibre encore plus nette : 50 p. 100 de la production se trouverait alors inférieure à 18 mm ;

— l'hybride n° 21 sous sa forme mâle apporterait un avantage de production de l'ordre de 20 p. 100 dès la deuxième année de récolte, ainsi qu'une meilleure précocité ; la perte de calibre serait tout à fait comparable à celle que l'on observerait sur le n° 3 ;

— pour l'hybride n° 23, la « version mâle » présenterait le même avantage de production que chez le n° 21, mais pas de gain de précocité ; il n'y aurait, par contre, aucune perte de calibre au niveau 20 mm ; seule, la proportion de turions de plus de 25 mm serait affectée mais elle resterait encore supérieure à 12 p. 100 (alors qu'elle était de 25 p. 100 chez les femelles).

Cet ensemble de résultats nous montre, de toute évidence, que chaque cas mérite d'être examiné séparément, même si une loi générale semble se dégager, à l'avantage des mâles pour la productivité et la précocité, et à leur désavantage pour le calibre des turions.

Bien que nous ayons pour objectif l'augmentation du rendement, nous ne pouvons ignorer la réaction des utilisateurs : accroître les rendements en produisant des turions moins gros ne satisfait pas l'agriculteur car cela signifie récolter un nombre de turions beaucoup plus important, c'est-à-dire prolonger, chaque jour, le travail des cueilleurs ; bien des agriculteurs s'y refusent catégoriquement, malgré l'attrait d'un rendement plus élevé.

Il semblerait, cependant, que produire des turions moins gros ne soit pas forcément un inconvénient :

— on récolte, dans certaines régions du midi de la France, des asperges de très forts calibres, quel que soit le matériel génétique utilisé ; il ne serait pas désastreux, dans ces régions, de cultiver l'une des « versions mâles » d'hybrides F_1 ayant tendance à produire des turions plus minces ;

— d'autre part, nous avons vu que des hybrides tels que le n° 23 peuvent, même sous leur forme exclusivement mâle, conserver un calibre fort intéressant (malheureusement, cet hybride particulier n'est pas aussi productif que les autres).

Bien entendu, à ces caractères quantitatifs, viennent s'ajouter les données qualitatives qui sont recueillies au cours des récoltes et qui peuvent modifier considérablement l'intérêt agronomique des divers F_1. L'aspect des turions, en particulier, est une donnée essentielle.

Compte tenu de l'ensemble des renseignements recueillis, la décision de créer (ou de ne pas créer) la « version mâle » d'un hybride F_1 intéressant mérite d'être soigneusement pesée.

Elle peut résulter de la recherche d'un équilibre (ou d'un compromis) entre les divers éléments de la rentabilité de la culture, mais elle doit être, autant que possible, prise en fonction d'un but prioritaire qui peut être en rendement très élevé, une grande précocité, de forts calibres, une belle présentation, l'absence d'anthocyane, un intérêt pour la culture non buttée, etc.

Alors que, jusqu'ici nous avons diffusé des hybrides hétérogènes, difficilement descriptibles, nous nous acheminons vers un matériel homogène, plus « typé », qui pourra convenir très bien pour une destination précise, et moins bien pour une autre.

Sans doute, chaque agriculteur souhaite-t-il que lui soit proposé un hybride idéal, présentant à la fois toutes les qualités ; dans la mesure où celles-ci sont biologiquement compatibles, il va de soi que nous nous efforçons de les réunir dans le matériel que nous sélectionnons ; mais en attendant d'y parvenir, l'utilisation raisonnée des données individuelles recueillies dans nos essais et traitées par les méthodes qui viennent d'être exposées doit nous permettre de mieux connaître notre matériel et, en fonction de cette connaissance, d'en tirer, si nous le jugeons utile, les F_1 exclusivement composées de plantes mâles que les sélectionneurs recherchent depuis plusieurs décennies et que l'androgenèse *in vitro* nous permet maintenant de produire.

Reçu pour publication en février 1976.

SUMMARY

ASPARAGUS IMPROVEMENT : JOINTED APPLICATION OF DESCRIPTIVE AND INFERENTIAL STATISTICAL METHODS TO THE REASONED USE OF PRODUCTION DIFFERENCES BETWEEN MALE AND FEMALE PLANTS

Male asparagus plants have long been considered agronomically superior to female plants, and selectors have tried to obtain exclusively male plantations.

In order to achieve this result, they tried to use *MM* genitors produced by self-fertilization of bisexuated plants ; however, this method is not perfect, since it introduces bisexuated characteristics in the progeny.

Careful observations of spears produced by male and female plants have conclusively shown that there are great variances in the superiority of male plants over female plants.

F_1 hybrids obtained from homozygotic lines constitute a new homogeneous material, which makes possible a study of the differences in production due to sex, quite apart from any autosomal factor ; this study is made more interesting by the fact that, since 1974, it has been possible to obtain the same F_1 hybrids in their « entirely male » form, by means of *in vitro* culture of the anthers of the paternal hybrid line.

This study is made easier by the jointed use of descriptive and inferential statistical methods :

— Total cumulative productions of plants of both sexes throughout the season are compared by means of the analysis of variance ; correspondences analysis provides a graphic representation

of data which allows to group some pickings and to choose the « critical moments » when the analysis of the variance of cumulative productions will be made, which procedure considerably minimizes computing, without any loss of precision.

— The non-gaussian distributions of the calibres of spears produced by plants of both sexes are compared by means of the Kolmogorov-Smirnov test, based on the maximum absolute deviation observed between both distribution fonctions (cumulative frequency, in increasing order, of the calibres).

Results obtained with 4 different F_1 hybrids confirm some notions which had previously been known : the male production is earlier and greater, and the spears are more numerous and slimmer than is the case for female plants. The results also show that the difference in production between sexes is not the same for all hybrids, neither is it the same for all points in one given season, nor for all areas, nor even for every year. The calibre distribution also differs according to the hybrid under observation, the area of culture and the year.

In conclusion, it can be said that each case should be studied by itself, before it can be known whether or not it is interesting to produce an F_1 hybrid in its « entirely male » form, when its normal form is already known.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bannerot H., Derieux M., Thévenin L., Arnoux J., 1969. Résultats d'un essai comparatif de populations d'Asperge. *Ann. Amélior. Plantes*, **19** (3), 289-324.

Beeskow H., 1967. Untersuchungen über die Variabilität der Andromonözie/Diözie und ihre Korrelationen mit verschiedenen Ertragsfaktoren bei Spargel (*Asparagus off.* L.) unter besonderer Berücksichtigung der Züchtung rein männlicher Sorten. *Z. Pflanzenzücht.*, **57**, 254-283.

Benzecri J.-P., 1973. *L'analyes des données*, t. II : *l'Analyse des correspondances*, Dunod, Paris, 619 p.

Doré C., 1974. Production de plantes homozygotes mâles et femelles à partir d'anthères d'Asperge. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, *série D*, **278**, 2135-2138.

Doré C., 1975 *a*. *Utilisation de la culture* in vitro *chez l'Asperge cultivée* (Asparagus officinalis *L.*). Thèse de 3e cycle, Univer., Paris-sud, Orsay, 68 p.

Doré C., 1975 *b*. La multiplication clonale de l'Asperge (*Asparagus officinalis* L.) par culture *in vitro* : son utilisation en sélection. *Ann. Amélior. Plantes*, **25**, (2), 201-224.

Pothoff R. F., Roy S. N., 1964. A generalized multivariate analysis of variance model useful especially for growth curve problems. *Biometrika*, **51**, 313-326.

Rick C. M., Hanna G. C., 1943. Determination of sex in *Asparagus officinalis* L. *Amer. J. Bot.*, **30**, 711-714.

Siegel S., 1956. *Non parametric statistics for the behavioral Sciences*. McGraw-Hill, New York, 127-136.

Sneep J., 1953. The significance of andromonoecy for the breeding of *Asparagus officinalis* L. *Euphytica*, **2**, 89-95 et 224-228.

Thevenin L., 1968. Les problèmes d'amélioration chez *Asparagus officinalis* L. II. Haploïdie et Amélioration. *Ann. Amélior. Plantes*, **18** (4), 327-365.

Thevenin L., 1968-1971. Asperge. *Rapport d'activité. Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes de Versailles* (p. J1-J30).

Thévenin L., 1972-1974. Asperge. *Rapport d'activité. Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes de Versailles* (p. H1-H40).

Thévenin L., Doré C., 1976. L'amélioration de l'Asperge (*Asparagus officinalis* L.) et son atout majeur, la culture *in vitro*. *Ann. Amélior. Plantes*, **26** (4), 655-674.

Tiedjens V. A., 1924. Some physiological aspects of *Asparagus officinalis* L. *Proc. Amer. Soc. hortic. Sci.*, **21**, 129-140.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (4), 717-744.

ESSAI DE DÉTERMINATION DE CRITÈRES PHYSIOLOGIQUES EN VUE DE L'AMÉLIORATION DU BLÉ TENDRE : LES FACTEURS DE LA PHOTOSYNTHÈSE DE LA DERNIÈRE FEUILLE (1)

C. PLANCHON

Laboratoire d'Amélioration des Plantes,
École nationale supérieure agronomique,
145, avenue de Muret,
31076 Toulouse Cedex

RÉSUMÉ

Le rendement en grain chez le Blé tendre est étroitement lié à l'activité photosynthétique de la dernière feuille pendant la phase floraison-maturité. Cette activité est le produit des trois composantes : assimilation nette par unité de surface, surface et durée de vie de la feuille.

C'est au niveau de la première composante : l'assimilation nette par unité de surface que des progrès peuvent être réalisés en vue de l'augmentation des rendements.

Les analyses physiologiques et génétiques montrent que l'association des deux facteurs : haute teneur en chlorophylle *a* et faible photorespiration entraînant une assimilation nette par unité de surface élevée, devrait permettre d'accroître le potentiel photosynthétique de la dernière feuille et par suite la productivité des variétés ou des hybrides F_1. Ces facteurs sont responsables de l'excellente aptitude à la combinaison de variétés anciennes telles que « Rouge de Bordeaux » (au moins avec les testeurs utilisés dans cette étude).

Ils peuvent donc constituer de bons critères de sélection dans le cadre de l'amélioration classique du Blé ou dans celui de la recherche d'hybrides F_1 à hétérosis élevée.

Nous proposons des méthodes simplifiées permettant la recherche de géniteurs ou de plantes dans les générations en ségrégation possédant l'un ou l'autre de ces caractères ou associant les deux.

INTRODUCTION

Il est maintenant démontré que le rendement en grain chez les céréales est fonction de l'activité photosynthétique de la plante pendant la croissance et la maturation du grain. L'assimilation chlorophyllienne après le stade épiaison intervient

(1) Le présent article reprend certains résultats d'une thèse de Doctorat d'État : Productivité, hétérosis et photosynthèse chez le Blé tendre (*Triticum aestivum* L.).

pour la plus grande partie dans la formation du grain (THORNE, 1963, 1965). Sur la totalité du feuillage, seule la partie présente après l'épiaison est directement concernée dans la production du grain (THORNE et WATSON, 1955 ; WELBANK *et al.*, 1966).

La supériorité de certaines variétés pour le rendement est due à un plus grand développement et à une meilleure répartition des surfaces assimilatrices particulièrement après l'épiaison et à une activité prolongée de ces dernières (STOY, 1965 ; BINGHAM, 1967).

L'activité photosynthétique globale de la dernière feuille pendant la phase floraison-maturité est responsable pour la plus large part du rendement final en grain chez le Blé tendre non barbu (THORNE, 1965 ; LUPTON, 1968 ; PLANCHON, 1968).

Elle est le produit d'une part de la surface de cette feuille et de sa durée de vie et d'autre part, de l'assimilation nette ou photosynthèse apparente par unité de surface.

Par l'analyse comparative de variétés anciennes et de variétés modernes sélectionnées, nous avons montré (PLANCHON, 1968) que l'augmentation des rendements liée à la sélection a été obtenue essentiellement par une amélioration de cette première composante : la surface foliaire.

Cependant il existe des différences nettes entre variétés dans la valeur de la troisième composante : l'assimilation nette par unité de surface, les variétés anciennes se montrant supérieures aux variétés modernes pour ce caractère.

C'est donc dans le domaine de la recherche d'une meilleure efficacité photosynthétique (exprimée par la valeur de l'assimilation nette par unité de surface) que des progrès peuvent être réalisés.

Ce dernier facteur est la résultante de la photosynthèse réelle et de la photorespiration. Il atteint des valeurs maximales (assimilation nette potentielle) aux conditions optimales de température et d'éclairement.

Il apparaît donc intéressant d'analyser les différences variétales pour les points suivants :

1. valeur potentielle de l'assimilation nette par unité de surface,
2. évolution de l'assimilation nette par unité de surface en fonction de la température,
3. valeur de la photorespiration.

Ces facteurs étant définis, leur comportement héréditaire après croisement devrait nous permettre, dans le cadre d'un programme d'amélioration des plantes :

1. d'orienter le choix des géniteurs en vue de la recherche d'un effet maximal d'hétérosis en F_1,
2. de prévoir les systèmes de sélection les plus efficaces dans le cadre de l'amélioration classique du Blé après détermination de l'additivité et de la dominance de ces caractéristiques liées à l'intensité de la photosynthèse.

Pour ce, il nous sera nécessaire de rechercher des tests simplifiés permettant le tri d'un nombre élevé de plantes (au niveau du choix des géniteurs ou à celui des générations en disjonction après croisement).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

I. — *Choix des variétés et des hybrides F_1. Effet d'hétérosis*

Deux groupes de variétés bien distincts ont été le point de départ de notre étude. Un premier groupe comprend des variétés anciennes tirées de populations de pays : « Touzelle Blanche de Provence », « Rouge de Bordeaux » et « Bladette de Puylaurens ». Le second groupe est composé de variétés modernes sélectionnées : « Étoile de Choisy », « Moisson » et « Capitole », auxquelles nous avons ajouté pour la dernière expérimentation « Goya », nouvelle variété inscrite au catalogue des variétés, et FEC (1).

A partir de 1966, nous avons entrepris un programme d'hybridation. Trois variétés du premier groupe (variétés issues de populations de pays) ont été croisées avec trois variétés modernes sélectionnées. Nous avons ainsi expérimenté 9 hybrides.

L'étude agronomique de ces variétés et des hybrides F_1 obtenus a montré que :

1. la productivité intrinsèque des variétés n'a pas subi d'amélioration sensible au cours de la sélection (déterminée au cours d'années favorables et en effectuant un tuteurage et des traitements anticryptogamiques, en particulier pour les variétés anciennes). Ce sont les facteurs de régularité des rendements tels que : résistance à la verse, aux maladies, au froid, adaptation aux conditions locales, etc... qui ont permis l'augmentation de la production ;
2. certains géniteurs sont capables, lorsqu'ils sont croisés avec un certain nombre de partenaires, de provoquer chez leur descendance F_1 un effet d'hétérosis élevé sur le rendement (tabl. 1).

TABLEAU I

Hétérosis par rapport au parent le plus productif

(semis de plein champ 100 plantes/m²)

Hybrides	Récolte 1969 (1)	Récolte 1970 (1)
« Capitole » × « Rouge de Bordeaux »	+ 23,7* ± 5,2	+ 49,2* ± 6,6
« Capitole » × « Touzelle Blanche de Provence »	+ 2,2 ± 5,3	+ 21,6* ± 6,2
« Capitole » × « Bladette de Puylaurens »	— 8,7 ± 6,0	+ 17,3* ± 5,8
« Moisson » × « Rouge de Bordeaux »	+ 16,8* ± 5,4	+ 34,2* ± 5,7
« Moisson » × « Touzelle Blanche de Provence »	+ 5,9 ± 5,0	—
« Moisson » × « Bladette de Puylaurens »	—	+ 2,3 ± 5,1
« Étoile de Choisy » × « Rouge de Bordeaux »	+ 30,5* ± 5,0	—
« Étoile de Choisy » × « Touzelle Blanche de Provence »	+ 16,8* ± 5,4	—
« Étoile de Choisy » × « Bladette de Puylaurens »	+ 11,1* ± 4,8	+ 15,7 ± 5,0

(1) Différence de rendement en grain de la plante entière exprimée en pourcentage par rapport au parent le plus productif.

Résultats exprimés par la moyenne ± l'erreur type sur la moyenne (m ± sm).

* Résultat significatif au seuil de 0,05 (6 répétitions de 10 plantes).

(1) Origine des variétés modernes :

« Étoile de Choisy » : (« Mon désir » × « Ardito ») × (M.E.R. × K_3) × M.E.R.
« Moisson » : « Cappelle » × (Hybride 80.3 × « Étoile de Choisy »)
« Capitole » : « Cappelle » × (Hybride 80.3 × « Étoile de Choisy »)
« Goya » : « Pilote » × FEC 28
FEC 28 : Lignée I.N.R.A.

Tous les hybrides F_1 entre « Rouge de Bordeaux » et les variétés modernes : « Capitole », « Moisson » et « Étoile de Choisy » présentent un effet d'hétérosis sur le rendement élevé, supérieur à celui des hybrides de ces mêmes variétés avec « Touzelle Blanche de Provence ». Ces derniers sont eux-mêmes supérieurs à ceux obtenus à partir de la variété « Bladette de Puylaurens ».

Il apparaît donc que « Rouge de Bordeaux » présente une excellente aptitude à la combinaison, au moins avec les testeurs utilisés dans cette étude : l'effet d'hétérosis sur le rendement des hybrides avec ce géniteur varie en 1969 de 16,8 ± 5,4 p. 100 à 30,5 ± 5,0 p. 100. Par contre « Bladette de Puylaurens » présente à ce point de vue une aptitude bien moins bonne : effet d'hétérosis variant de — 8,7 ± 6,0 p. 100 à 11,1 ± 4,8 p. 100.

Les essais pour l'étude des facteurs de la photosynthèse de ces différentes variétés et leurs hybrides ont été réalisés dans des pots en zinc contenant 15 kg de terre.

Les pots sont placés en serre froide, l'eau étant apportée régulièrement de façon à réaliser une humidité constante de 20 p. 100 par rapport au poids de terre sèche, correspondant à environ 90 p. 100 de la capacité de rétention pour l'eau du sol. Huit grains sont semés par pot, le nombre de répétitions variant avec le type d'essais.

II. — *Détermination de l'assimilation nette et de la teneur en chlorophylle de la dernière feuille*

Nous avons utilisé la technique classique de la chambre d'assimilation, le taux d'échange du CO_2 étant déterminé par un analyseur de gaz à infrarouge (type ONERA, 0-400 p.p.m.). Le taux de CO_2 est déterminé avant et après la chambre d'assimilation (1). L'assimilation nette par unité de surface est calculée à partir de la formule suivante :

$$N = \Delta CO_2 \frac{Q}{S}$$

où N est l'assimilation nette (mg de CO_2 h^{-1}), ΔCO_2, la différence de concentration en CO_2 avant et après la chambre, Q le débit d'air (en dm^3 h^{-1}), S la surface des feuilles (dm^2).

La chambre d'assimilation a été conçue selon le modèle décrit par Nátr et Špidla (1963), avec un contrôle de la température et de l'hygrométrie.

L'éclairage de la chambre est alors assuré par deux lampes à vapeur de mercure à haute tension. L'éclairement obtenu est de 50 000 lux correspondant à une valeur saturante pour le Blé.

Le dispositif précédent nous permet soit de travailler à température constante, soit de réaliser des mesures en faisant varier lentement la température. Dans ces conditions nous avons pu suivre l'évolution de l'assimilation nette en fonction de la température pour l'ensemble de nos variétés et hybrides.

Les chlorophylles sont dosées par la méthode de McKinney-Arnon (Arnon, 1949). Les mesures de densité optique sont faites dans des cuves de 1 cm d'épaisseur par rapport à un blanc d'acétone à 80 p. 100 aux longueurs d'onde de 663 mμ et 645 mμ. La teneur en chlorophylle *a* et *b* des solutions étudiées en microgrammes par millilitre est fournie par la formule suivante :

$$\text{Chlorophylle } a = 12{,}7\ D_{663} - 2{,}69\ D_{645}$$
$$\text{Chlorophylle } b = 22{,}9\ D_{645} - 4{,}68\ D_{663}$$

III. — *Détermination de la photorespiration*

La photorespiration est déterminée à partir des relations entre l'assimilation nette et la concentration en CO_2 de l'air ambiant.

Decker (1957) considère que la relation assimilation nette/teneur en CO_2 est linéaire pour les faibles teneurs en CO_2, et que le dégagement de CO_2 obtenu par extrapolation pour la teneur zéro de l'air ambiant peut être considéré comme la mesure de la photorespiration, la photosynthèse étant nulle en absence de CO_2.

De plus, il admet que la photorespiration est indépendante de l'assimilation nette et de la teneur en CO_2 de l'air, et ainsi la valeur de la photosynthèse réelle est représentée par une droite parallèle à celle de l'assimilation nette et passant par l'origine (fig. 1).

Un double circuit est utilisé. Un circuit est alimenté avec de l'air dont la teneur en CO_2 est voisine de celle de l'air ambiant, un second est alimenté avec de l'air débarrassé de son CO_2 par passage de la potasse. Le réglage du débit des deux circuits permet d'obtenir une teneur déterminée en CO_2.

(1) Pour le détail du montage expérimental on pourra se reporter à la thèse de C. Planchon, 1973.

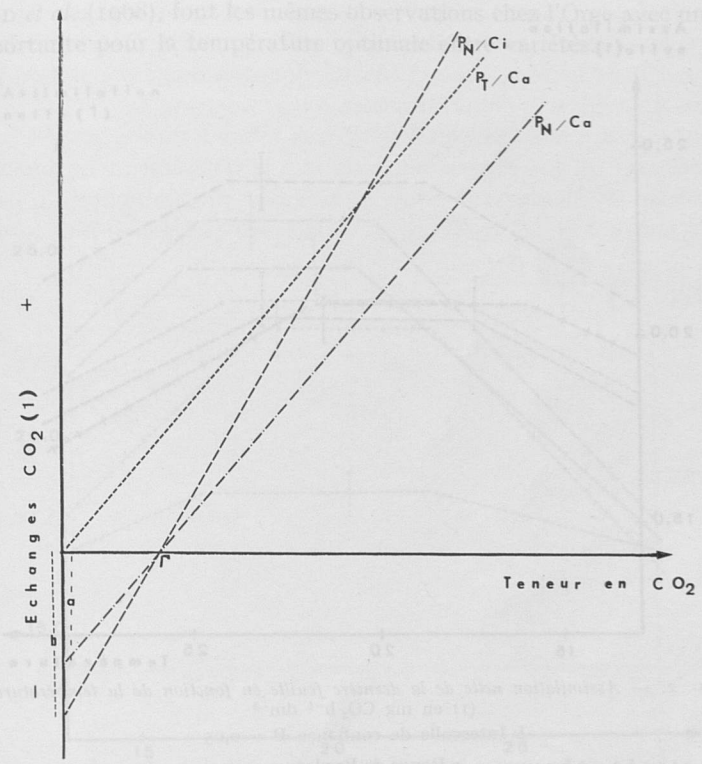


FIG. 1. — *Détermination de la photorespiration* (d'après LUDLOV et JARVIS, 1971)

P_N — Photosynthèse apparente,
P_T — Photosynthèse réelle,
C_a — Teneur en CO_2 de l'air,
C_i — Teneur en CO_2 dans l'espace intercellulaire,
a — Valeur de la photorespiration obtenue par extrapolation pour une concentration nulle en CO_2 de l'air. Cette valeur est une sous-estimation de la photorespiration. En fait, la valeur de la photorespiration correspond davantage à l'ordonnée à l'origine de P_N/C_i (b) que de P_N/C_a (a).

RÉSULTATS

I. — *Différences variétales pour l'assimilation nette potentielle par unité de surface et réponse de la photosynthèse aux variations de température*

L'enregistrement en continu de l'assimilation nette en fonction de la température nous permet de déterminer :

1. la valeur de l'assimilation nette potentielle par unité de surface,
2. la réponse de l'assimilation nette au facteur température.

De l'examen des figures 2 et 3 pour les différentes variétés, il apparaît que :

a) L'intensité de l'assimilation nette potentielle par unité de surface varie dans des limites assez larges en fonction de la variété, FEC ayant la plus forte assimilation

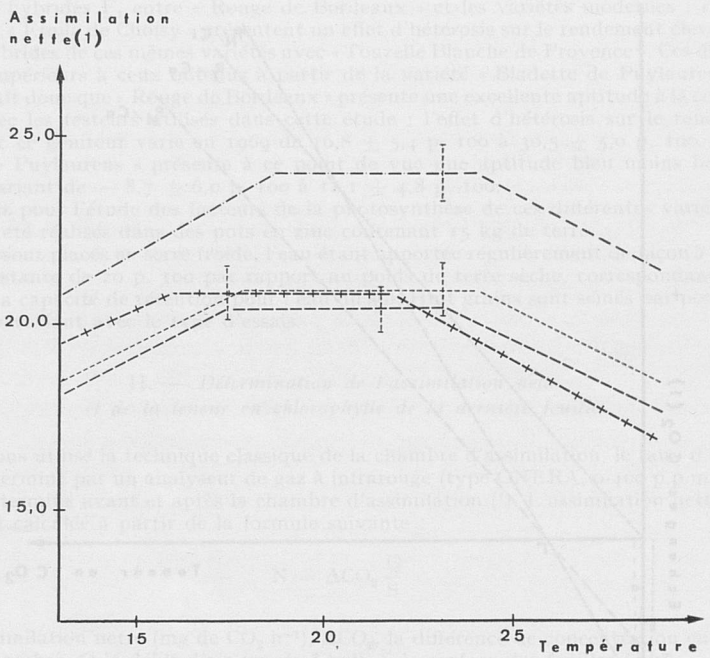


FIG. 2. — *Assimilation nette de la dernière feuille en fonction de la température*
(1) en mg CO_2 h^{-1} dm^{-2}
I Intervalle de confiance P = 0,05
— · — · — « Rouge de Bordeaux »
--------- « Touzelle Blanche de Provence »
— — — — « Moisson »
— + — + « Étoile de Choisy »

et « Capitole » la plus faible. La supériorité de FEC par rapport à « Capitole » peut être chiffrée à + 39,5 p. 100 pour l'assimilation maximale.

Notons que les différences variétales relevées chez le Blé pour l'assimilation nette potentielle par unité de surface ne sont pas spécifiques de cette espèce.

PEARCE *et al.* (1969) pour la Luzerne, BRUN et COOPER (1967) pour le Soja, HEICHEL et MUSGRAVE (1969) pour le Maïs, notent des écarts plus importants (20 à 50 mg $CO_2/dm^2/h$ pour la Luzerne, 29 à 43 pour le Soja, 28 à 85 pour le Maïs).

b) L'assimilation nette est maximale pour une gamme de températures plus ou moins étendue selon la variété ceci étant schématisé par le plateau des courbes (plateau court pour « Bladette », « Goya » et FEC, long pour les cinq autres variétés).

c) La diminution de l'assimilation nette en fonction de la température est accusée pour certaines variétés (« Bladette, » FEC et « Goya ») et plus lente pour les autres. La réponse de l'assimilation nette à la température est donc différente suivant la variété étudiée.

KOSHKIN et BŸKOV (1970), signalent également des différences considérables dans la réponse de la photosynthèse aux variations de température. La température optimale pour la plus forte intensité photosynthétique est comprise entre 10 et 20°C pour les variétés originaires de Scandinavie ou de l'Europe de l'Ouest et comprise entre 20 et 30°C pour les variétés originaires de l'Asie centrale.

OMROD *et al.* (1968), font les mêmes observations chez l'Orge avec une variation moins importante pour la température optimale entre variétés.

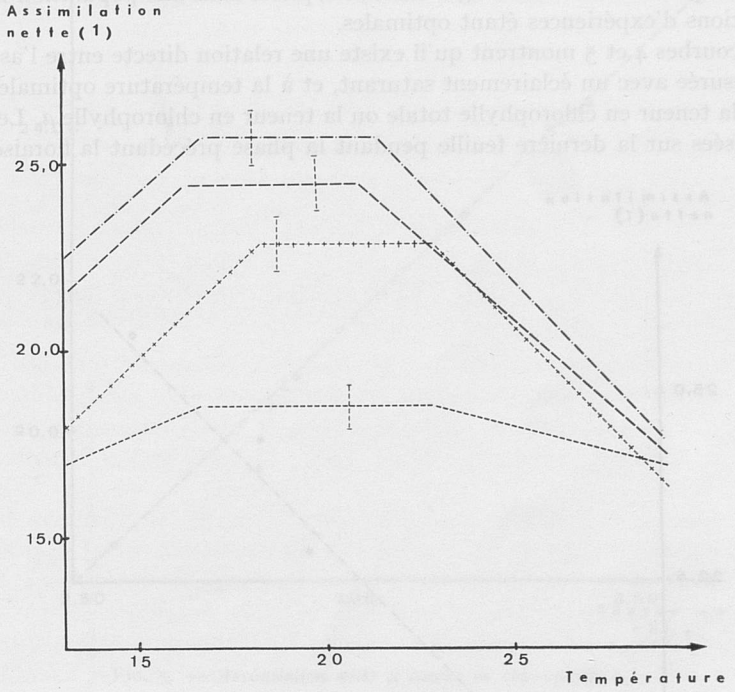


FIG. 3. — *Assimilation nette de la dernière feuille en fonction de la température*
(1) en mg CO_2 h^{-1} dm^{-2}
I Intervalle de confiance P = 0,05
— · — · — FEC 28
— — — — « Goya »
+ + + + « Bladette de Puylaurens »
---------- « Capitole »

Nous avons tenté d'interpréter les différences variétales pour ces deux facteurs étudiés : assimilation nette potentielle par unité de surface et réponse de la photosynthèse à la température par l'étude des relations assimilation nette-teneur en chlorophylle pour le premier et analyse de la photorespiration pour le second.

II. — *Assimilation nette et chlorophylle* a

L'étude des rapports entre l'activité photosynthétique et le contenu en chlorophylle a été entreprise depuis très longtemps et a fait l'objet d'un très grand nombre de publications. Deux voies différentes ont été utilisées pour tenter d'établir les relations entre ces deux valeurs. La première consiste en l'analyse de mutants chlorophylliens, ou de variétés panachées ou de plantes carencées, mais dans ce cas l'appareil chlorophyllien est fortement modifié. L'étude de feuilles d'âge différent, se développant sur une même plante a également été entreprise dans ce but. Les teneurs en chlorophylle diffèrent par des changements intervenant dans la synthèse ou dans la destruction des pigments en relation avec le vieillissement de la feuille.

Šesták (1966), démontre, chez le Tabac et le Chou fourrager, l'existence de relations simples, linéaires entre la teneur en chlorophylle et l'intensité de la photosynthèse, à partir de feuilles d'âges différents, prises dans une population homogène, les conditions d'expériences étant optimales.

Les courbes 4 et 5 montrent qu'il existe une relation directe entre l'assimilation nette, mesurée avec un éclairement saturant, et à la température optimale d'assimilation et la teneur en chlorophylle totale ou la teneur en chlorophylle *a*. Les mesures sont réalisées sur la dernière feuille pendant la phase précédant la floraison.

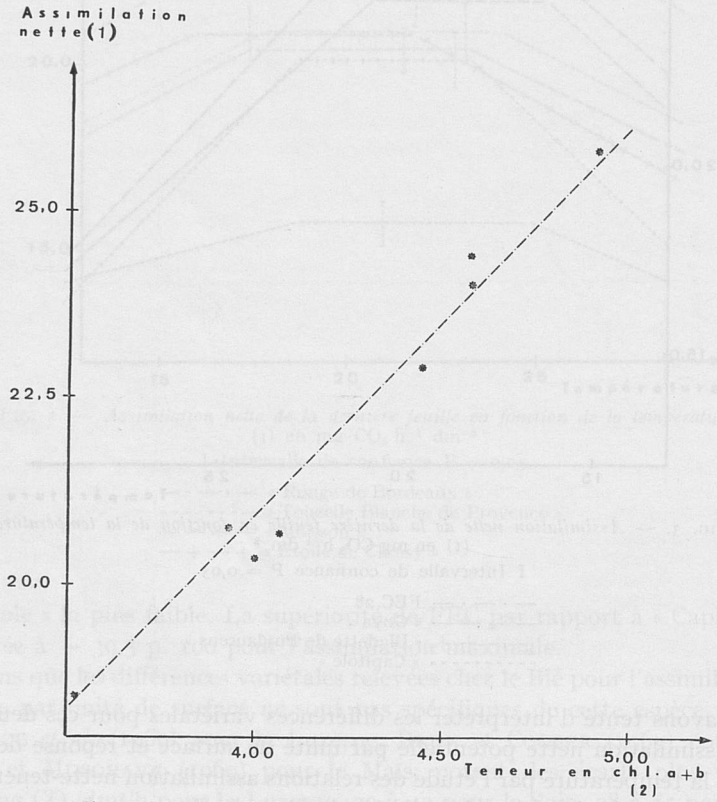


Fig. 4. — *Assimilation nette et teneur en chlorophylle totale*

(1) en mg CO_2 h^{-1} dm^{-2}
(2) en mg dm^{-2}

Les variétés ayant les plus fortes assimilations (et par suite les teneurs les plus élevées en chlorophylle *a*) sont toutes des variétés à épi roux (tabl. 2). Ce fait serait particulièrement intéressant s'il était confirmé, car il serait un élément facilement utilisable dans la recherche de géniteurs à potentiel photosynthétique élevé. L'analyse de la disjonction au niveau de la F_2, de croisements entre variétés à épi roux et variétés à épi blanc, permettra de préciser la liaison entre ces deux caractères.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Šesták (1966), quant aux relations intensité de la photosynthèse/teneur en chlorophylle dans les conditions d'expériences optimales et pour des feuilles « physiologiquement mûres ».

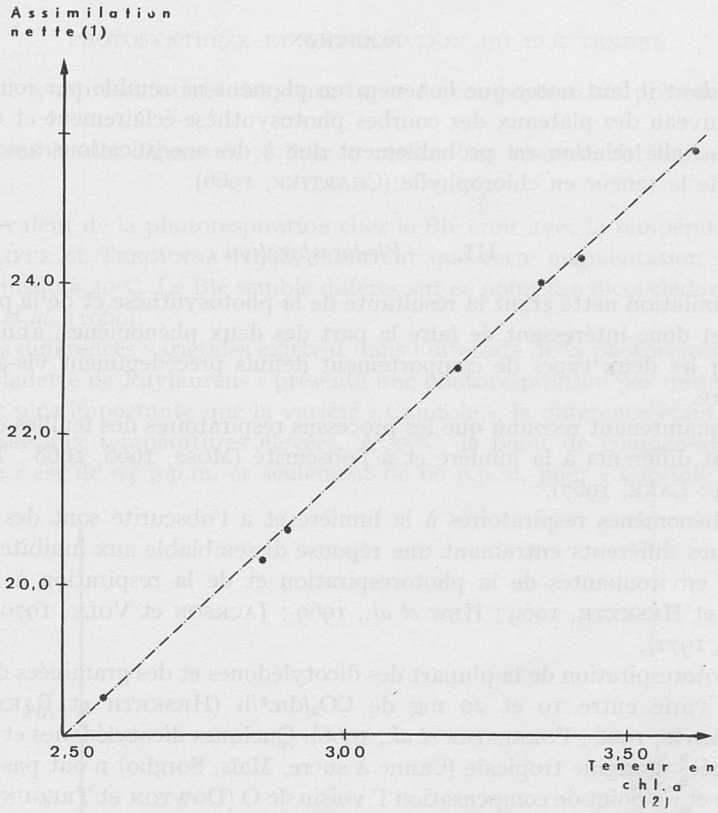


FIG. 5. — *Assimilation nette et teneur en chlorophylle* a

(1) en mg CO^2 h^{-1} dm^{-2}
(2) en mg dm^{-2}

TABLEAU 2

Assimilation nette et teneur en chlorophylle a

(culture 1969-70)

Variétés	Couleur de l'épi	Assimilation nette (1)	Teneur en chlorophylle *a* (2)
FEC	Roux	25,8 ± 0,6	3,62 ± 0,04
« Goya »	Roux	24,4 ± 0,3	3,42 ± 0,02
« Étoile de Choisy »	Blanc	20,7 ± 0,7	2,90 ± 0,05
« Capitole »	Blanc	18,5 ± 0,4	2,58 ± 0,03
« Moisson »	Blanc	20,3 ± 0,6	2,85 ± 0,04
« Bladette de Puylaurens »	Roux pâle	22,9 ± 0,5	3,20 ± 0,03
« Touzelle »	Blanc	20,8 ± 0,5	2,92 ± 0,03
« Rouge de Bordeaux »	Roux	24,0 ± 0,6	3,35 ± 0,03

Résultats exprimés par la moyenne ± l'erreur type de la moyenne (m ± sm), 4 à 6 mesures.

(1) en mg de CO_2/h par dm^2 de feuille,

(2) en mg par dm^2 de feuille.

Cependant il faut noter que la teneur en pigment ne semble par jouer un rôle direct au niveau des plateaux des courbes photosynthèse-éclairement et que l'existence d'une telle relation est probablement due à des modifications associées à la variation de la teneur en chlorophylle (CHARTIER, 1966).

III. — *Photorespiration*

L'assimilation nette étant la résultante de la photosynthèse et de la photorespiration il est donc intéressant de faire la part des deux phénomènes, afin de tenter d'expliquer les deux types de comportement définis précédemment vis-à-vis de la température.

Il est maintenant reconnu que les processus respiratoires des feuilles chlorophyliennes sont différents à la lumière et à l'obscurité (MOSS, 1966, 1968 ; TREGUNNA *et al.*, 1964 ; LAKE, 1967).

Les phénomènes respiratoires à la lumière et à l'obscurité sont des processus métaboliques différents entraînant une réponse dissemblable aux inhibiteurs et aux conditions environnantes de la photorespiration et de la respiration à l'obscurité (HOFSTRA et HESKETH, 1969 ; HEW *et al.*, 1969 ; JACKSON et VOLK, 1970 ; LUDWIG et CANVIN, 1971).

La photorespiration de la plupart des dicotylédones et des graminées des régions tempérées varie entre 10 et 20 mg de CO_2/dm²/h (HESKETH et BAKER, 1967 ; BEGG et JARVIS, 1968 ; FORRESTER *et al.*, 1966). Quelques dicotylédones et la plupart des graminées d'origine tropicale (Canne à sucre, Maïs, Sorgho) n'ont pas de photorespiration et un point de compensation Γ voisin de O (DOWTON et TREGUNNA, 1968).

HATCH et SLACK (1966, 1968) montrent que plusieurs graminées fixent le carbone par photosynthèse suivant une voie différente du cycle de Calvin. Le CO_2 se fixe d'abord sur le phosphoénolpyruvate, les premiers produits formés étant l'oxaloacétate, le malate ou l'aspartate. Chez les dicotylédones et la plupart des graminées des régions tempérées, l'incorporation du CO_2 se réalise suivant le cycle de Calvin, le CO_2 se fixant directement sur le ribulose 1-5 diphosphate et les composés intermédiaires étant en C_3 (HATCH et SLACK, 1970).

La photorespiration se substitue à la respiration à « l'obscurité » au fur et à mesure que l'éclairement augmente. On connaît mal ce mécanisme de substitution et la division qu'il présente doit être au moins nuancée lorsqu'il se place à un éclairement donné.

La photorespiration augmente jusqu'à 35°C puis diminue chez les dicotylédones : Tournesol, Soja, Aubergine, Melon, Fève (HEW *et al.*, 1969), Betterave à sucre, Soja (HOFSTRA et HESKETH, 1969), la respiration à l'obscurité continuant à croître au-delà de cette valeur.

Aux températures peu élevées, la photorespiration est plus grande que la respiration à l'obscurité, l'inverse étant observé à partir de 35 à 40°C.

Chez le Blé, la photorespiration augmente au moins jusqu'à 40°C. (JOLIFFE et TREGUNNA, 1968).

La température apparaît être un facteur important agissant sur l'intensité de la photorespiration en particulier chez le Blé. La chute importante de l'assimilation nette aux températures élevées de certaines variétés pourrait être liée à ce phénomène.

Son analyse a été entreprise sur les deux variétés « Capitole » et « Bladette de

Puylaurens », représentatives des deux types de comportements précédemment décrits.

L'ensemble des figures 6, 7, 8 et 9 résume les résultats obtenus et montre que :

1. la valeur de la photorespiration chez le Blé croît avec la température jusqu'à 35°C. JOLIFFE et TREGUNNA (1968) montrent que cette augmentation se poursuit au moins jusqu'à 40°C. Le Blé semble différer sur ce point des dicotylédones étudiées par HEW *et al.* (1969),

2. des différences variétales existent dans l'intensité de la photorespiration chez le Blé. « Bladette de Puylaurens » présente une photorespiration par unité de surface nettement plus importante que la variété « Capitole », la différence étant nettement plus accusée aux températures élevées. A 35°C, le point de compensation (Γ) de « Bladette » est de 94 p.p.m. et seulement de 60 p.p.m. pour « Capitole ».

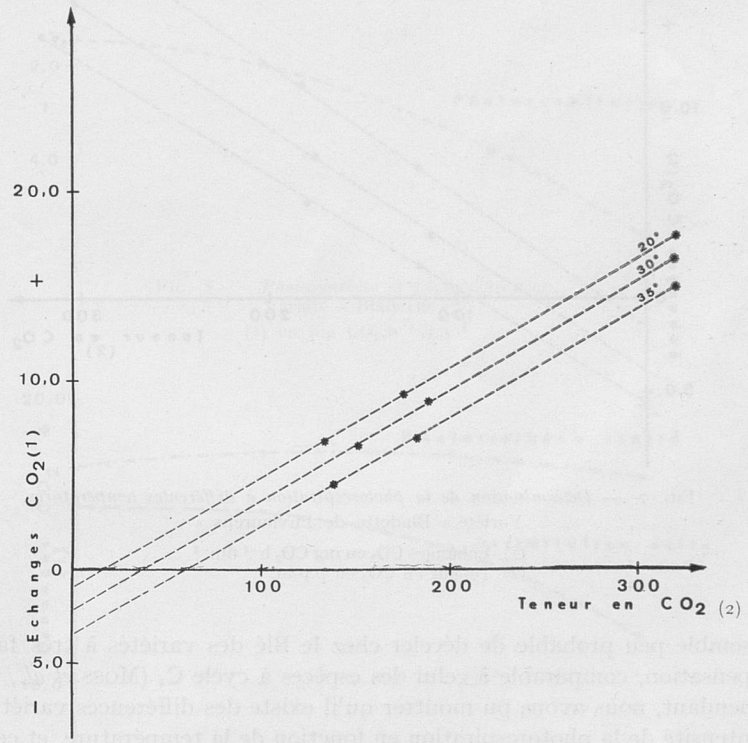


FIG. 6. — *Détermination de la photorespiration à différentes températures.*
Variété « Capitole »

(1) Échanges CO_2 en mg CO_2 h^{-1} dm^{-2}
(2) Teneur en CO_2 en p.p.m.

3. l'intensité élevée de la photorespiration aux fortes températures de la variété « Bladette » permet d'expliquer, en partie, la chute de la photosynthèse apparente à ces températures (fig. 8).

Cependant nous pouvons noter que la photosynthèse réelle corrigée de la photo-

respiration diminue de façon plus importante pour « Bladette » que pour « Capitole » (fig. 8 et 9).

La photorespiration, déterminée selon la méthode employée, apparaît être un facteur essentiel, mais non le seul, limitant l'assimilation nette de certaines variétés aux températures élevées.

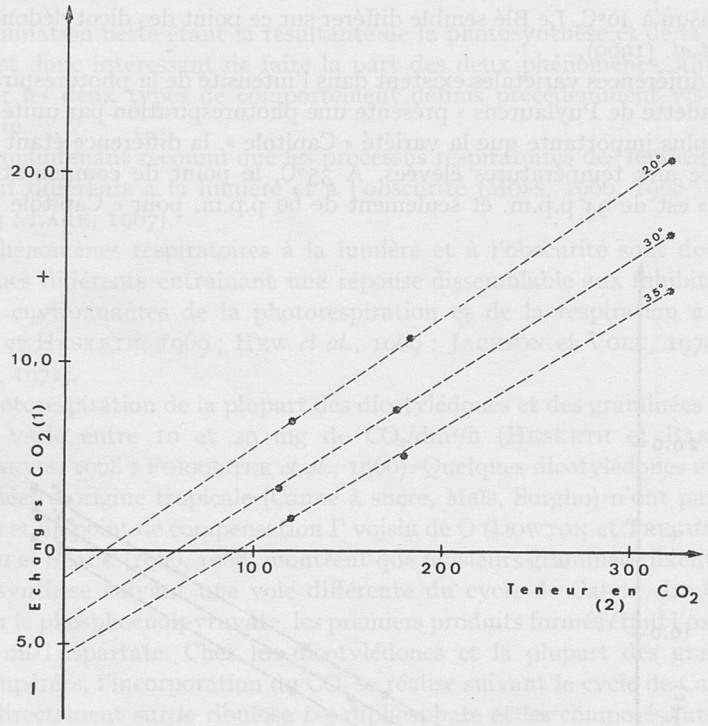


FIG. 7. — *Détermination de la photorespiration à différentes températures.*
Variété « Bladette de Puylaurens »
(1) Échanges CO_2 en mg CO_2 h^{-1} dm^{-2}
(2) Teneur en CO_2 en p.p.m.

Il semble peu probable de déceler chez le Blé des variétés à très faible point de compensation, comparable à celui des espèces à cycle C_4 (Moss *et al.*, 1971).

Cependant, nous avons pu montrer qu'il existe des différences variétales nettes dans l'intensité de la photorespiration en fonction de la température, et ce fait constitue un élément important pouvant limiter l'intensité de la photosynthèse et par suite la productivité de certaines variétés.

En résumé, pour améliorer le facteur assimilation nette par unité de surface, nous rechercherons des géniteurs :

1. peu sensibles aux variations de température (groupe 1),
2. ayant une forte teneur en chlorophylle *a*.

Les variétés à épi roux semblent être les plus intéressantes pour ce caractère.

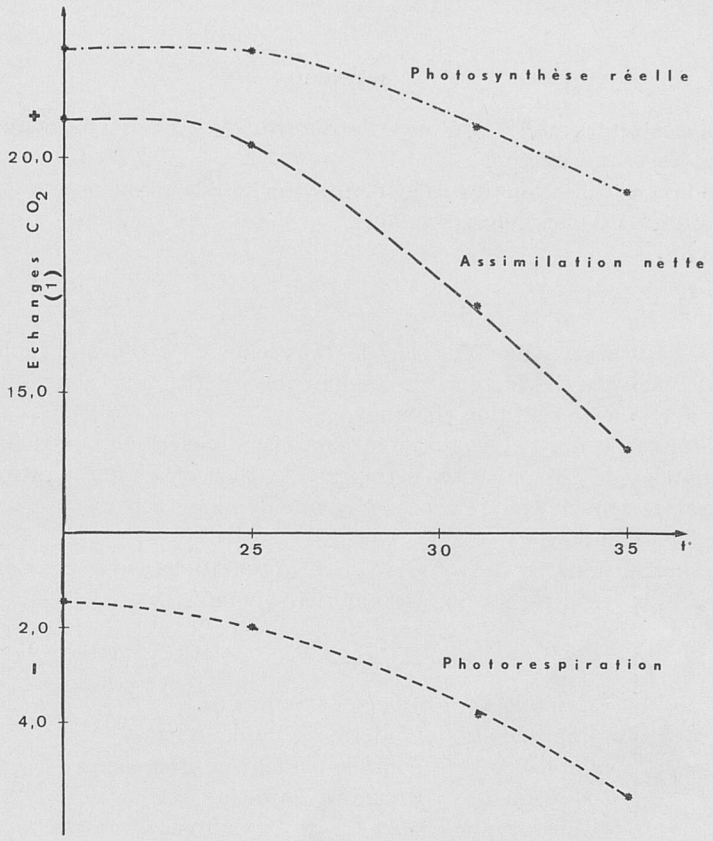


FIG. 8. — *Photosynthèse et photorespiration.* - Variété « Bladette »
(1) en mg CO_2 h^{-1} dm^{-2}

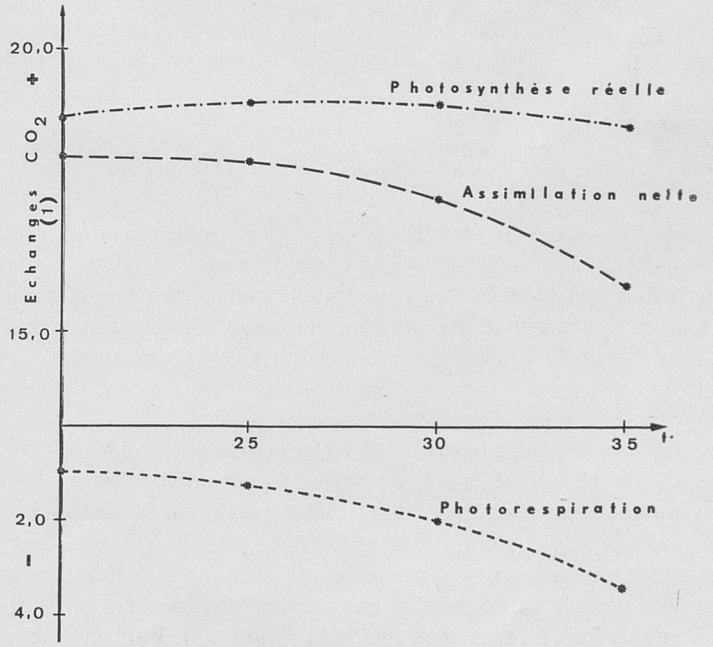


FIG. 9. — *Photosynthèse et photorespiration.* Variété « Capitole »
(1) en mg CO_2 h^{-1} dm^{-2}

Parmi nos huit variétés, « Rouge de Bordeaux » est le meilleur géniteur pour l'ensemble des deux caractères.

Cependant, l'utilisation de tels géniteurs nécessite la connaissance du comportement héréditaire des caractères envisagés.

IV. — *Aspect génétique*

Nous ne disposons que de peu de renseignements d'ordre bibliographique concernant l'hérédité des facteurs de l'assimilation nette, tant pour l'application à l'hétérosis que pour la sélection classique.

Pour IZHAR et WALLACE (1967), le mécanisme génétique contrôlant les différences variétales de l'assimilation nette chez le Haricot serait quantitatif et sous l'action de relativement peu de gènes, avec une dominance partielle pour les faibles valeurs de l'assimilation.

En réalisant, à partir de 1967, diverses hybridations entre ces variétés, nous disposions dès la culture 1968-69, du matériel suivant :

Hybrides F_1 :

« Capitole » × « Rouge de Bordeaux »
« Capitole » × « Bladette de Puylaurens »
« Capitole » × « Touzelle blanche de Provence »
« Moisson » × « Rouge de Bordeaux »
« Moisson » × « Bladette de Puylaurens »
« Moisson » × « Touzelle blanche de Provence ».

Pour la culture 1969-70, les hybrides F_1 étaient analysés ainsi que :
la F_2 de l'hybride : « Capitole » × « Rouge de Bordeaux »
et le back-cross : (« Capitole » × « Rouge de Bordeaux ») « Capitole ».

Les essais sont faits en pots.

A. *Teneur en chlorophylle* a.

L'unique étude sur cette question a été réalisée, à notre connaissance, par GHAI *et al.* (1969) sur le Blé tendre, 80 jours après le semis, les deux variétés S.413 et C.273 et leurs hybrides F_1 et F_2 étant au stade tallage. Il montre, dans ces conditions, que le caractère haute teneur en chlorophylle *a* est monogénique, et à dominance partielle. L'héritabilité du caractère est très grande (84,7 p. 100).

1. *Analyse des* F_1 (1969 et 1970).

Nous constatons que les hybrides F_1 ont une teneur en chlorophylle *a* par unité de surface proche de celle du meilleur parent pour 5 hybrides sur 6 et supérieure pour un hybride, et ceci pour les 2 années. Si le calcul est fait à partir du poids sec, par l'intermédiaire d'un double échantillonnage, les 6 hybrides ont une valeur sensiblement égale au meilleur parent. Ceci semblerait montrer l'existence d'une dominance complète pour le caractère teneur en chlorophylle *a* élevée (tabl. 3).

Ce fait va être précisé par l'analyse de la disjonction F_2 et du back-cross.

TABLEAU 3

Teneur en chlorophylle a - *Hybride* F_1

	Résultats 1969 (2)		Résultats 1970 (3)	
	Chlorophylle *a*/poids sec (1) en mg/g	Chlorophylle *a*/surface en mg/dm²	Chlorophylle *a*/poids sec (1) en mg/g	Chlorophylle *a*/surface en mg/dm²
« Capitole »	6,60	3,08 ± 0,05	5,90	2,65 ± 0,04
« Capitole » × « Bladette »	8,60	3,82 ± 0,04	7,80	3,44 ± 0,04
« Bladette »	8,50	3,33 ± 0,04	7,75	3,20 ± 0,05
« Moisson » × « Bladette »	—	—	7,75	3,35 ± 0,05
« Moisson »	7,40	2,92 ± 0,03	6,60	2,85 ± 0,04
« Moisson » × « Rouge de Bordeaux »	8,46	3,30 ± 0,05	7,80	3,33 ± 0,05
« Rouge de Bordeaux »	8,38	3,32 ± 0,04	7,82	3,37 ± 0,06
« Capitole » × « Rouge de Bordeaux »	8,50	3,36 ± 0,05	7,85	3,34 ± 0,05
« Touzelle »	7,38	3,18 ± 0,05	6,74	2,92 ± 0,04
« Capitole » × « Touzelle blanche »	7,40	3,18 ± 0,04	6,75	2,94 ± 0,05
« Moisson » × « Touzelle blanche »	7,50	3,18 ± 0,05	6,70	2,90 ± 0,04

* Résultats exprimés par la moyenne ± l'erreur type de la moyenne (m ± sm) 6 à 8 mesures.
(1) Déterminé par double échantillonnage.
(2) Fumure azotée 80 unités/ha.
(3) Fumure azotée 50 unités/ha.

2. *Analyse de la* F_1, F_2 *et du back cross pour le croisement* « *Capitole* » × « *Rouge de Bordeaux* ».

Compte tenu des éléments indiqués précédemment, nous avons choisi le croisement « Capitole » × « Rouge de Bordeaux » pour cette étude. Seule la teneur en chlorophylle *a* par unité de surface a donc pu être déterminée.

L'analyse porte sur 20 plantes de chaque parent, 20 F_1, 50 F_2 et 50 back-cross (tabl. 4).

En F_2, nous pouvons classer 37 individus type « Rouge de Bordeaux » (géniteur à haute teneur en chlorophylle *a*) et 13 type « Capitole », soit un rapport 3/1.

Pour le back-cross avec « Capitole » comme parent récurrent nous obtenons 26 individus type « Rouge de Bordeaux » et 24 type « Capitole », soit un rapport 1/1.

Ces deux disjonctions complémentaires montrent que le caractère haute teneur en chlorophylle *a* est monogénique ($\chi^2 F_2 = 0$ $\chi^2 BC = 0{,}08$).

De plus, elles confirment la dominance complète ou quasi totale du caractère haute teneur en chlorophylle *a* par rapport à la faible teneur.

Le calcul de l'héritabilité au sens large donné par la formule :

$$H = 1 - \frac{\text{Variance Parents}}{\text{Variance } F_2} = 0{,}935$$

montre que le caractère est hautement héritable et qu'il peut, par conséquent, être utilisé dans le cadre de l'amélioration des variétés pour une activité photosynthétique accrue.

TABLEAU 4

Comportement génétique du caractère haute teneur en chlorophylle a

Nombre de plantes	Teneur en chlorophylle *a* en mg/dm²												
	2,30	2,40	2,50	2,60	2,70	2,80	2,90	3,00	3,10	3,20	3,30	3,40	3,50
« Capitole »		2	8	7	2								
« Rouge de Bordeaux »										1	10	8	1
F_1									1	11	7	1	
F_2	13						37						
	1	2	4	4	2		3	6	6	8	8	4	2
Back-cross	24						26						
	1	8	8	7			2	4	8	5	3	4	

B. *Liaison coloration de l'épi-teneur en chlorophylle.*

Nous avons noté au chapitre II que les variétés ayant les teneurs les plus élevées en chlorophylle *a* étaient toutes des variétés à épi roux.

De plus, nous savons et nous avons pu vérifier pour l'ensemble de nos variétés que la coloration rousse de l'épi était un facteur dominant et monogénique.

Nous constatons donc que toutes les F_1 obtenues par croisement entre une variété à épi roux et une variété à épi blanc, sont à épi roux et ont une teneur élevée en chlorophylle *a*.

Ces éléments nous ont amené à penser à une possible liaison entre les caractères épi roux et forte teneur en chlorophylle *a*.

L'étude de la disjonction F_2 permet de bien préciser ce fait (tabl. 5).

Toutes les dernières feuilles des plantes à épi blanc ont une teneur en chlorophylle *a* inférieure à 2,70, c'est-à-dire du même ordre de grandeur que celle du géniteur à épi blanc « Capitole ».

Toutes les dernières feuilles des plantes à épi roux ou demi roux, à l'exception d'une seule, ont une teneur en chlorophylle *a* élevée, supérieure ou égale à 2,90 et voisine de celle du géniteur à épi roux.

Nous pouvons donc conclure à l'existence d'une liaison étroite entre le caractère épi roux et le caractère forte teneur en chlorophylle *a* de la dernière feuille, pour les variétés étudiées.

Il s'agit probablement d'un phénomène de « linkage » assez étroit, l'association en coupling des gènes conditionnant ces caractères se maintenant :

1. au niveau des disjonctions de la F_2 et du back-cross chez l'hybride « Capitole » × « Rouge de Bordeaux »,

2. au cours de la sélection après hybridation entre géniteurs épi roux/haute teneur en chlorophylle *a* et géniteurs épi blanc/faible teneur en chlorophylle *a* (cas des variétés « Goya » et FEC (1).

TABLEAU 5

Liaison coloration de l'épi/teneur en chlorophylle a

	Teneur en chlorophylle *a* en mg/dm²	2,30	2,40	2,50	2,60	2,70	2,80	2,90	3,00	3,10	3,20	3,30	3,40	3,50
F_2	Nombre total	1	2	4	4	2		3	6	6	8	8	4	2
	Nombre épis roux								1	1	2	5	3	1
	Nombre épis 1/2 roux					1		3	5	5	6	3	1	1
	Nombre épis blancs	1	2	4	4	1								

La possibilité de réassocier les facteurs en position de répulsion (épi blanc/forte teneur) dépend des linkats (2) des loci qui restent à déterminer.

Ce point est particulièrement intéressant car il permet d'orienter la recherche des géniteurs à haute activité photosynthétique. En effet, nous pouvons penser, à partir de ce résultat, que les géniteurs à haute activité photosynthétique seront essentiellement présents parmi les variétés à épi roux.

A partir de ces données, nous pouvons supposer que les variétés futures à haute activité photosynthétique seront des variétés à épi roux.

Il est assez étonnant de constater qu'il n'existe actuellement aucune variété à épi roux faisant l'objet d'une grande culture en France, ce qui nous laisse à penser que de larges possibilités d'amélioration du Blé tendre existent encore.

C. — *Assimilation nette et température.*

Le comportement génétique de l'évolution de l'assimilation nette en fonction de la température est étudié à partir des seules F_1, étant donné la durée de chaque mesure (quatre heures environ).

(1) FEC variété issue du croisement « Étoile de Choisy » × « Frontana ». « Goya » variété issue du croisement « Pilote » × FEC.

« Frontana » ancienne variété à épi roux. « Pilote » ancienne variété à épi blanc.

Les deux caractères épi roux, haute teneur en chlorophylle (facteurs monogéniques) ne peuvent provenir chez FEC que de « Frontana » (« Étoile de Choisy » étant à épi blanc et à faible teneur).

La liaison entre les deux caractères étudiés a donc été conservée au cours de la sélection après une série de deux croisements aboutissant à la variété « Goya ».

(2) Linkat : ensemble protégé par une probabilité de recombinaison interne plus faible que celle résultant de la position relative des loci sur le chromosome (DEMARLY, 1972).

a) Hybride F_1 dont les parents appartiennent tous deux au même groupe (faible chute de la photosynthèse aux températures élevées). L'hybride F_1 se comporte comme les deux parents (fig. 10 pour l'hybride « Capitole » × « Rouge de Bordeaux »). Nous avons obtenu le même résultat pour les hybrides « Capitole » × « Touzelle », « Moisson » × « Rouge de Bordeaux », « Moisson » × « Touzelle »).

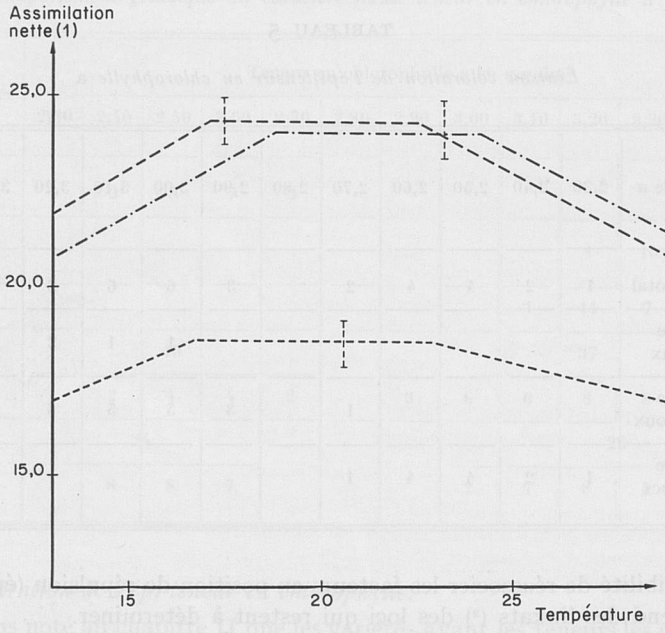


FIG. 10. — *Comportement des hybrides* F_1
(les deux parents appartenant au même groupe)
(1) en mg CO_2 h^{-1} dm^{-2}
I Intervalle de confiance P = 0,05
— — — — « Capitole » × « Rouge de Bordeaux »
— · — · — « Rouge de Bordeaux »
- - - - - - - - - « Capitole »

b) Hybrides F_1 dont les parents appartiennent à deux groupes différents.

L'hybride F_1 se comporte comme le parent présentant une chute importante de l'indice d'assimilation aux températures élevées (fig. 11 pour l'hybride « Capitole » × « Bladette »). Nous avons obtenu le même résultat avec l'hybride « Moisson » × « Bladette ».

Le comportement vis-à-vis de la température du groupe II est dominant par rapport au groupe I.

Les variétés du groupe II sont donc à éliminer en tant que géniteur, pour l'obtention d'hybrides F_1, car du fait de la dominance du caractère étudié, elles entraînent chez ces derniers, une chute importante de l'activité photosynthétique aux températures élevées.

En résumé les géniteurs à haute teneur en chlorophylle *a*, compte tenu de la dominance complète de ce caractère, sont ceux qui permettent l'obtention d'une hétérosis rendement élevée, sous réserve qu'ils appartiennent au groupe I, c'est-à-dire qu'ils soient peu sensibles à la température.

Parmi l'ensemble des variétés étudiées, « Rouge de Bordeaux » est le seul géniteur présentant ces deux caractères, ce qui explique qu'il entraîne lors du croisement une hétérosis rendement élevée et ce qui confirme son excellente aptitude à la combinaison.

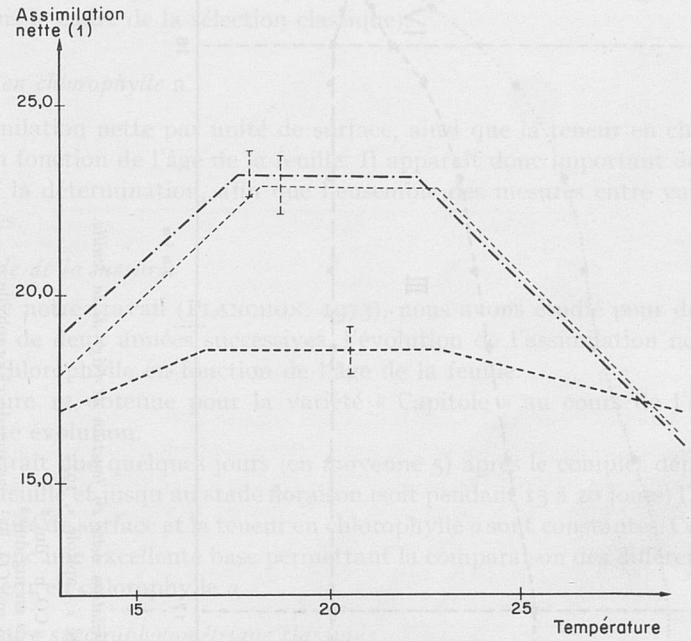


FIG. 11. — *Comportement des hybrides F_1*
(les deux parents appartenant à deux groupes différents)
(1) en mg CO_2 h^{-1} dm^{-2}
I Intervalle de confiance P = 0,05
— · — · — « Capitole » × « Bladette de Puylaurens »
- - - - - - - - « Bladette de Puylaurens »
— — — — « Capitole »

Par contre, l'effet provoqué par la haute teneur en chlorophylle *a* de la variété « Bladette de Puylaurens » est pratiquement annulé par la sensibilité à la température de la variété et par suite de l'hybride compte tenu de la dominance de ce caractère.

Pour être complet il nous faut signaler que la surface foliaire est un facteur du potentiel photosynthétique de la dernière feuille mais les effets d'hétérosis sur le rendement dus à une augmentation de cette composante sont très limités car elle entraîne parallèlement une plus grande compétition pour la lumière des différentes feuilles (PLANCHON, 1973).

V. — *Application à l'amélioration de l'espèce*

L'analyse complète des deux caractères (teneur en chlorophylle *a* et photorespiration), nécessite un dispositif expérimental complexe et des mesures longues (en particulier pour la détermination de la photorespiration) peu compatibles avec les méthodes de l'Amélioration des Plantes qui nécessitent de pouvoir tester rapidement un grand nombre de plantes.

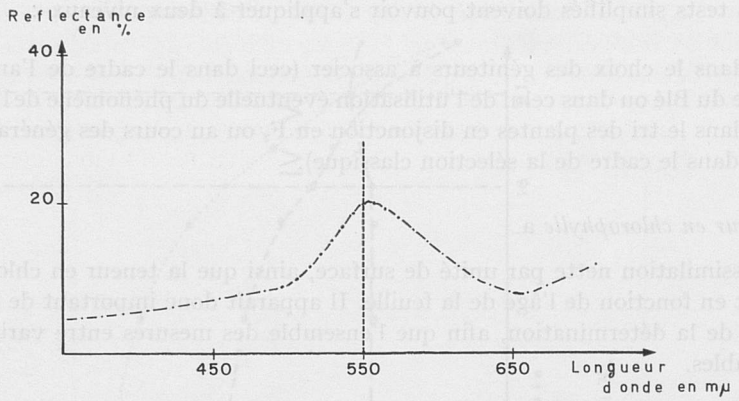


FIG. 13. — « *Réflectance* » *aux longueurs d'onde comprises entre 350 et 750 mμ* pour la variété d'Orge « Golden Compana » (d'après CARDENAS et GAUSSMAN, 1973)

B. *Liaison haute teneur en chlorophylle* a - *coloration rousse de l'épi.*

Nous avons pu montrer l'existence d'une liaison étroite entre le caractère épi roux et la teneur élevée en chlorophylle *a* de la dernière feuille pour un certain nombre de variétés. Si un tel phénomène était confirmé pour l'ensemble des variétés et si la liaison était très étroite, le repérage des géniteurs ou des plantes en ségrégation à haute teneur en chlorophylle *a* deviendrait aisé.

Nous préparons d'autre part, une lignée isogénique de « Capitole » ne différant de celle-ci que par la couleur de l'épi obtenu par croisement avec « Rouge de Bordeaux » afin de comparer les performances.

C. *Photorespiration.*

Nous avons montré que la recherche de géniteurs à faible photorespiration peut permettre, dans le cadre de la sélection classique des variétés ou dans celui de l'obtention d'une hétérosis élevée chez les hybrides F_1, un progrès dans l'augmentation de la productivité. De même nous pouvons concevoir le tri des plantes F_2 et des générations ultérieures pour ce même caractère.

Cependant, comme pour les mesures d'assimilation nette, les mesures individuelles directes de la photorespiration, généralement longues et délicates, sont mal adaptées aux objectifs de l'amélioration des plantes. Nous avons été amenés à concevoir un dispositif permettant de repérer, parmi un ensemble de plantes (variétés ou F_2), celles présentant une faible photorespiration.

Nous avons montré que les deux variétés « Capitole » et « Bladette de Puylaurens » avaient des points de compensation très distincts aux températures élevées. Ces deux variétés sont utilisées comme témoins.

L'ensemble des variétés, au stade trois feuilles est placé dans une chambre fermée à la partie supérieure par une double paroi en altuglas ou circule de l'eau. L'éclairage est assuré par une lampe à vapeur de mercure (Philips HPLR 400 W). L'éclairement obtenu est de 50 000 lux.

A l'intérieur de cette chambre circule de l'air à température constante obtenue par passage de l'air dans un serpentin immergé dans une cuve remplie d'eau ther-

mostatée. La température réalisée est de 30°C, les différences des points de compensation entre variétés étant plus marquées aux températures élevées.

L'humidité relative de l'air est de 80 p. 100, obtenue par passage dans un humidificateur.

L'air circulant dans la chambre à une teneur en CO_2 voisine du point de compensation Γ de la variété à forte photorespiration (« Bladette de Puylaurens » témoin, fig. 14).

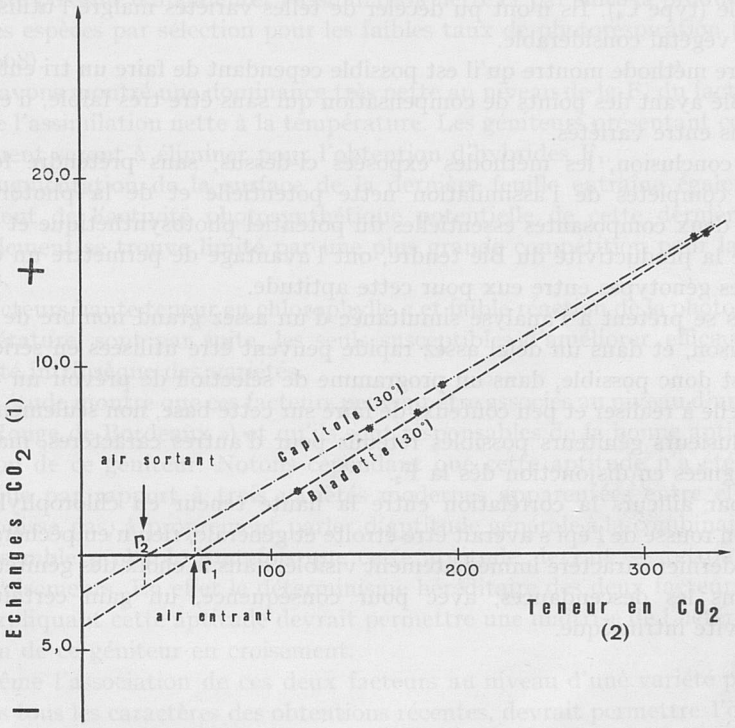


FIG. 14. — *Principe du tri des variétés à faible photorespiration*
(1) Échange CO_2 en mg CO_2 h^{-1} dm^{-2}
(2) Teneur en CO_2 en p.p.m.

Un double circuit est utilisé. Le premier est alimenté avec de l'air dont la teneur en CO_2 est voisine de celle de l'air ambiant et le second avec de l'air débarrassé de son CO_2 par passage dans de la potasse. Le réglage des débits des deux circuits permet d'obtenir une teneur déterminée en CO_2.

Le volume d'air fourni aux plantes est réduit, la teneur en CO_2 de l'air à la sortie de la chambre est dans ces conditions, voisine du point de compensation de la variété ayant la plus faible photorespiration.

Les variétés à haut Γ désassimilent, cependant que les variétés à faible Γ continuent à assimiler en absorbant à la fois du CO_2 fourni par l'air, mais également le CO_2 provenant de la photorespiration des variétés à fort Γ.

Les plantes sont soumises au régime 16 h d'éclairement, 8 h d'obscurité.

Après 15 jours d'expérimentation, on constate que les variétés à haut Γ dépérissent et les variétés à faible Γ maintiennent une viabilité normale.

Un tri peut donc s'effectuer entre plantes à photorespiration élevée et plantes à photorespiration plus faible. L'expérimentation montre qu'il existe une bonne concordance entre les résultats obtenus par mesure directe sur la dernière feuille au stade épiaison, et les données obtenues par cette méthode simplifiée au stade trois feuilles.

Le dispositif utilisé s'apparente à celui utilisé par MENZ *et al.* (1969) qui employaient du maïs pour appauvrir l'air en CO_2 dans des enceintes closes pour déceler, chez des espèces de type C_3 (Avoine et Soja) des variétés à point de compensation très faible (type C_4). Ils n'ont pu déceler de telles variétés malgré l'utilisation d'un matériel végétal considérable.

Notre méthode montre qu'il est possible cependant de faire un tri entre variétés chez le Blé ayant des points de compensation qui sans être très faible, n'en diffèrent pas moins entre variétés.

En conclusion, les méthodes exposées ci-dessus, sans prétendre fournir des mesures complètes de l'assimilation nette potentielle et de la photorespiration, qui sont deux composantes essentielles du potentiel photosynthétique et par conséquent de la productivité du Blé tendre, ont l'avantage de permettre un classement relatif des génotypes entre eux pour cette aptitude.

Elles se prêtent à l'analyse simultanée d'un assez grand nombre de lignées en comparaison, et dans un délai assez rapide peuvent être utilisées en série.

Il est donc possible, dans un programme de sélection de prévoir un tel équipement, facile à réaliser et peu coûteux, de faire sur cette base, non seulement un choix parmi plusieurs géniteurs possibles retenus pour d'autres caractères, mais aussi le tri des lignées en disjonction dès la F_2.

Si par ailleurs la corrélation entre la haute teneur en chlorophylle *a* et la coloration rousse de l'épi s'avérait être étroite et générale, rien n'empêcherait d'introduire ce dernier caractère immédiatement visible, dans le choix des géniteurs et de le fixer dans les descendances, avec pour conséquence, un gain certain dans la productivité intrinsèque.

CONCLUSION ET DISCUSSION

L'augmentation des rendements chez le Blé tendre peut être obtenue par la recherche d'une meilleure efficacité photosynthétique de la dernière feuille.

L'assimilation nette potentielle par unité de surface est un élément de cette efficacité. Or il existe une grande variabilité génétique pour ce caractère, les variétés anciennes étant généralement supérieures aux variétés modernes. Ce facteur est étroitement lié à la teneur en chlorophylle *a* de la feuille, et il existe une liaison entre la coloration rousse de l'épi et la forte teneur en chlorophylle *a*. Ce fait devrait permettre d'orienter le choix des géniteurs et faciliter le tri des lignées en disjonction.

La photorespiration est un second élément important pouvant limiter l'intensité de la photosynthèse chez les espèces à cycles en C_3 comme le Blé. S'il semble peu probable de déceler parmi les espèces de type C_3 des variétés sans photorespiration (CANNELL *et al.*, 1969 ; MOSS et MUSGRAVE, 1971), il existe des variations importantes dans l'intensité de la photorespiration en fonction de la température (HEW *et al.*, 1969).

L'étude de l'évolution de l'assimilatlon nette en fonction de la température fait apparaître pour nos variétés l'existence de deux types de comportements : un premier montrant une faible réaction et un second accusant une forte chute de l'assimilation aux températures élevées.

Cette forte chute de l'assimilation aux températures élevées est liée pour une large mesure à la photorespiration.

La photorespiration est un facteur de l'efficacité photosynthétique de la feuille et il doit être possible d'augmenter l'assimilation nette et par suite la productivité de nombreuses espèces par sélection pour les faibles taux de photorespiration (ZELITCH et DAY, 1968).

Nous avons montré une dominance très nette au niveau de la F_1 du facteur forte réaction de l'assimilation nette à la température. Les géniteurs présentant ce type de comportement seront à éliminer pour l'obtention d'hybrides F_1.

Si l'augmentation de la surface de la dernière feuille entraîne également un accroissement de l'activité photosynthétique potentielle de cette dernière, l'effet sur le rendement se trouve limité par une plus grande compétition pour la lumière des feuilles.

Les facteurs haute teneur en chlorophylle *a* et faible réaction de la photosynthèse à la température, sont par suite, les seuls susceptibles d'améliorer efficacement la productivité intrinsèque des variétés.

Notre étude montre que ces facteurs peuvent être associés au niveau d'une variété (cas de « Rouge de Bordeaux ») et qu'ils sont responsables de la bonne aptitude à la combinaison de ce géniteur. Notons cependant que cette aptitude n'a été mise en évidence que par rapport à trois variétés modernes apparentées entre elles. Bien qu'on ne puisse pas, à proprement parler d'aptitude générale à la combinaison dans ce cas, il semble probable toutefois que cette aptitude devrait se retrouver dans d'autres croisements. En effet le déterminisme héréditaire des deux facteurs physiologiques expliquant cette aptitude devrait permettre une maîtrise de l'hétérosis dans l'utilisation de ce géniteur en croisement.

De même l'association de ces deux facteurs au niveau d'une variété possédant par ailleurs tous les caractères des obtentions récentes, devrait permettre l'obtention de rendements accrus dans le cadre de la sélection classique.

Nous proposons, dans le but :

1. d'augmenter la productivité des variétés,

2. d'utiliser le phénomène de l'hétérosis et d'en rechercher l'effet maximum, d'ajouter à la liste des critères classiques de sélection les éléments suivants :

— couleur de l'épi,

— teneur en chlorophylle *a* de la dernière feuille,

— réaction de la photosynthèse à la température, phénomène lié à la photorespiration.

D'autres éléments doivent également être pris en considération :

— port érigé de la feuille permettant une réduction de la compétition pour la lumière des différentes feuilles,

— présence de barbes. La contribution de la photosynthèse de barbes des blés aristés est importante (THORNE, 1965). Or elles échappent pratiquement à la compétition pour la lumière.

La circulation et la distribution des produits de la photosynthèse peuvent constituer des facteurs limitants du rendement en grain ; des différences très nettes ont été mises en évidence par EVANS et DUNSTONE (1970) au niveau des espèces de *Triticum*. LUPTON (1968) a également montré chez le Blé tendre des différences variétales dans la participation après l'anthèse des différents organes à l'alimentation du grain. Pendant la période de remplissage du grain la participation relative des diverses parties de la plante varie et il y a généralement compensation. Il apparaît, dans ces conditions, assez difficile dans l'état actuel de nos connaissances, de faire intervenir cet aspect dans un programme de sélection.

Reçu pour publication en avril 1975.

SUMMARY

ATTEMPT TO DETERMINE PHYSIOLOGICAL CRITERIA FOR THE IMPROVEMENT OF SOFT WHEAT : FACTORS OF THE FLAG LEAF PHOTOSYNTHESIS

The grain yield in soft Wheat is closely related to the photosynthetic activity in the flag leaf during the flowering to maturity stage. This activity results from three factors : net assimilation per area unit, leaf area and life span.

Some improvements to increase the yields may be obtained by modifying the first factor : the net assimilation per area unit.

The physiological and genetical analyses reveal that the combining of the two factors : high chlorophyll *a* content and low photorespiration inducing an important net assimilation per area unit, should lead to an increase of the photosynthetic potential of the flag leaf and consequently of the productivity of the varieties and F_1 hybrids. These factors are responsible for the excellent combining ability of former varieties such as « Rouge de Bordeaux » (at least with the test plants used for this study).

They can therefore constitute good selection criteria within the traditional Wheat improvement or the detection of F_1 hybrids with a high heterosis.

We set forth simplified methods allowing to find out parents or plants in the segregating generations wich present one of these characters or both of them.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ARNON D. J., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.*, **24**, 1-25.

BEGG J. E., JARVIS P. G., 1968. Photosynthesis in Townsville lucerne (*Stylosanthes humilus H.B.K.*). *Agr. Meteorol.*, **5**, 91-109.

BINGHAM J., 1967. Breeding cereals for improved yielding capacity. *Ann. appl. Biol.*, **59** (2), 312-315.

BRUN W. A., COOPER R. L., 1967. Effects of light intensity and carbon dioxide concentration on photosynthetic rate of soybean. *Crop Sci.*, **7**, 451-454.

CANNELL R. Q., BRUN W. A., MOSS D. N., 1969. A search for high net photosynthetic rate among soybean genotypes. *Crop Sci.*, **9**, 840-841.

CARDENAS R., GAUSSMAN H. W., 1973. Relation of light reflectance of six barley lines with chlorophyll assays and optical film densities. *Agron. J.*, **65** (3), 518-519.

CHARTIER P., 1966. Étude théorique de l'assimilation brute de la feuille. *Ann. Physiol. vég.*, **8** (3), 167-195.

DECKER J. P., 1957. Further evidence of increased carbon dioxide production accompanying photosynthesis. *J. solar Energy Sci. Eng.*, **1**, 30-33.

DEMARLY Y., 1972. Régulation et hétérosis. *Ann. Amélior. Plantes*, **22**, 143-166.

DOWNTON W. J. S., TREGUNNA E. B., 1968. Carbon dioxide compensation, its relation to photosynthetic carboxylation reactions, systematics of the *Graminea* and leaf anatomy. *Can. J. Bot.*, **46**, 207-215.

DVOŘÁK J., NÁTR L., 1971. Carbon dioxide compensation points of *Triticum* and *Aegilops* species. *Photosynthetica*, **5** (1), 1-5.

EVANS L. T., DUNSTONE R. L., 1970. Some physiological aspects of evolution in wheat. *Aust. J. Biol. Sci.*, **23**, 725 741.

FORRESTER M., KROTKOV G., NELSON C. D., 1966. Effect of O_2 on photosynthesis, photorespiration and respiration in detached leaves. II. Corn and other monocotyledons. *Plant Physiol.*, **41**, 428-431.

GHAI B. S., SRIVASTAVA A. K., GILL K. S., 1969. Inheritance of amount of chlorophyll in wheat, *Triticum aestivum* L. *Euphytica*, **18**, 403-405.

HATCH M. D., SLACK C. R., 1966. Photosynthesis by sugar-cane leaves. A new carboxylation reaction and the pathway of sugar formation. *Biochem. J.*, **101**, 103-111.

HATCH M. D., SLACK C. R., 1968. New enzyme for the interconversion of pyruvate and phosphopyruvate and its role in the carbon (4) dicarboxylic acid pathway of photosynthesis. *Biochem. J.*, **106**, 141-146.

HATCH M. D., SLACK C. R., 1970. Photosynthetic CO_2 fixation pathways. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **21**, 141-162.

HEICHEL G. H., MUSGRAVE R. B., 1969. Varietal differences in net photosynthesis of *Zea mays* L. *Crop Sci.*, **9**, 483-486.

HESKETH J., BAKER D., 1967. Light and carbon assimilation by plant communities. *Crop Sci.*, **7**, 285-293.

HEW C. S., KROTKOV G., CANVIN D. T., 1969 *a*. Determination of the rate of CO_2 evolution by green in light. *Plant Physiol.*, **44**, 662-670.

HEW C. S., KROTKOV G., CANVIN D. T., 1969 *b*. Effects of temperature on photosynthesis and CO_2 evolution in light and darkness by green leaves. *Plant. Physiol.* **44**, 671-677.

HOFSTRA G., HESKETH J. D., 1969. The effects of temperature in the gas exchange of leaves in the light and dark. *Planta*, **85**, 228-237.

HOFSTRA G., HESKETH J. D., 1969. The effects of temperature on stomatal aperture in different species. *Can. J. Bot.*, **47**, 1307-1310.

IZHAR S., WALLACE D. H., 1967. Studies of the physiological basis for yield differences. III. Genetic variation in photosynthetic efficiency of *Phaseolus vulgaris* L. *Crop Sci.*, **7**, 457-460.

JOLLIFFE P. A., TREGUNNA E. B., 1968. Effect of temperature, CO_2 concentration, and light intensity of oxygen inhibition of photosynthesis in wheat leaves. *Plant. Physiol.*, **43**, 902-906.

KOSHKIN V. A., BYKOV O. D., 1970. (En russe). Courbes de l'influence de la température sur l'intensité potentielle de la photosynthèse chez les blés de printemps de diverses origines. *Dokl. vses. Akad. Sel'skohoz. Nauk*, **12**, 10-11.

LAKE J. V., 1967. Respiration of leaves during photosynthesis. I. Estimates from an electrical analogue. *Austr. J. Biol. Sci.*, **20**, 487-493.

LUDLOW M. M., JARVIS P. G., 1971. Methods for measuring photorespiration in leaves. in *Plant Photosynthetic Production. Manual of methods*. SESTAK Z., CATSKY J., JARVIS P. G. (Ed.). Dr W. JUNK N. V., Publishers The Hague, 294-315.

LUDWIG L. J., CANVIN D. T., 1971. The rate of photorespiration during photosynthesis and the relationship of the substrate of light respiration to the products of photosynthesis in sunflower leaves. *Plant Physiol.*, **48** (6), 712-719.

LUPTON F. G. H., 1968. The analysis of grain yield of wheat in terms of photosynthesis ability and efficiency of translocation. *Ann. appl. Biol.*, **61**, 109-119.

MENZ K. M., MOSS D. N., CANNELL R. Q., BRUN W. A., 1969. Screening for photosynthetic efficiency. *Crop Sci.*, **9**, 692-694.

MOSS D. N., 1966. Respiration of leaves in light and darkness. *Crop Sci.*, **6**, 351-354.

MOSS D. N., 1968. Photorespiration and glycolate metabolism in tobacco leaves. *Crop. Sci.*, **8**, 71-76.

MOSS D. N., MUSGRAVE R. B., 1971. Photosynthesis and crop production. *Adv. Agron.*, **23**, 317-336.

NÁTR L., ŠPIDLA J., 1963. Assimilation chambers for studying the photosynthetic rates of leaves and spikes of cereals. *Biol. Plant.*, **5**, 284-286.

ORMROD D. P., HUBBARD W. F., FARIS D. G., 1968. Effect of temperature on net carbon dioxide exchange rates of twelve barley varieties. *Can J. Plant. Sci.*, **48**, 363-368.

PEARCE R. B., BROWN R. H., BLASER R. E., 1968. Photosynthesis of alfalfa leaves as influenced by age and environment. *Crop Sci.*, **8**, 677-680.

PLANCHON C., 1968. Activité photosynthétique de la dernière feuille et rendement en grain chez le Blé tendre (*Triticum aestivum* L.). *C. R. Acad. Sci.*, **266**, 123-125.

PLANCHON C., 1971. Relations entre l'assimilation chlorophyllienne nette, la teneur en chlorophylle *a* et la température chez le Blé tendre (*Triticum aestivum* L.). *C. R. Acad. Sci.*, Paris, **272**, 68-71.

PLANCHON C., 1973. *Productivité, hétérosis et photosynthèse chez le Blé tendre* (Triticum aestivum L.). Thèse Sc. Nat., Toulouse, 130 p.

Šesták Z., 1966. Limitations for finding a linear relationship between chlorophyll content and photosynthetic activity. *Biologia Plantarum*, **8** (5), 336-346.

Stoy V., 1965. Photosynthesis, respiration and carbohydrate accumulation in relation to yield. *Physiol. Plant.* suppl., **4**, 125 p.

Thorne G. N., 1963. Varietal differences in photosynthesis of ears and leaves of barley. *Ann. Bot.*, **27**, 155-174.

Thorne G. N., 1965. Photosynthesis of ears and flag leaves of wheat and barley. *Ann. Bot.*, **29**, 317-329.

Thorne G. N., Watson D. J., 1955. The effect on yield and leaf area of wheat of applying nitrogen as a topdressing in april or in sprays at ear emergence. *J. Agric. Sci. Camb.*, **46**, 449-456.

Tregunna E. B., Krotkov G., Nelson C. D., 1964. Further evidence on the effects of light on respiration during photosynthesis. *Can. J. Bot.*, **42**, 989-997.

Welbank P. J., French S. A. W., Witts K. J., 1966. Dependance of yields of wheat varieties on their aera durations. *Ann. Bot. N. S.*, **30**, 292-299.

Zelitch I., Day P. R., 1968. Variation in photorespiration. The effect of genetic differences in photorespiration on net photosynthesis in tobacco. *Plant. Physiol.*, **43**, 1838-44.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (4), 745-749.

THE EFFECT ON WHEAT OF AN *AGROPYRON* CHROMOSOME CARRYING STRIPE RUST RESISTANCE (1)

Yvonne CAUDERON and J.-M. RHIND*

Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes,
Centre national de Recherches agronomiques, I. N. R. A.,
78000 Versailles, France

* *Department of agricultural technical Services,*
Pietermaritzburg, Afrique du Sud

SUMMARY

In order to find the best way of using the resistance to stripe rust of *Agropyron intermedium* (HOST) P. B. in wheat breeding, a study of the genetic behaviour of this resistance was undertaken by the mean of a partial amphiploid TAF 46 (*2n* = 56, 21 « Blé + 7'' *Agropyron*) and some aneuploid derivatives (monosomic, disomic, ditelosomic alien addition lines). It was proved that only one chromosome of *Agropyron* was controlling the resistance. In monosomic condition this chromosome is transmitted through 20 p. 100 of the female and 10 p. 100 of the male gametes respectively. Work is in progress to obtain further information about the homoeologous relationships between *Agropyron* and wheat chromosomes.

One of many interesting agronomic characters of *A. intermedium* HOST P. B. is its resistance to stripe, stem and leaf rusts of wheat.

In order to study the genetic behaviour and to find the best way of using this material in wheat breeding, we undertook a systematic study of the generations derived from the hybrid (*Triticum aestivum cv.* « Vilmorin 27 » × *A. intermedium*). This was backcrossed two or three times to « V. 27 ».

We then demonstrated that selection for *Agropyron* characters led to the creation of addition types because of the absence of recombination between the chromosomes of the two parental species. The fixed viable additions occurred at the level

(1) Résumé d'un exposé présenté au 3e symposium de l'E. W. A. C. (groupe de travail pour l'étude des aneuploïdes du Blé). Novi Sad (Yougoslavie 19-22 juin 1974).

of one pair of genomes or chromosomes according to the genetic control of the characters under selection : selection for resistance to all three rusts together led to the isolation of a partial amphiploid, TAF 46, with 21″ of Wheat + 7″ of *Agropyron intermedium* carrying the genes controlling the three resistances (CAUDERON, 1966).

Another backcross to wheat led to more fertile lines closely resembling wheat, but with a separation of the resistances and a loss of the genes controlling stripe rust resistance. It was possible to isolate, at the same time, two different disomic addition lines, TAF 1 and TAF 2, the first one with leaf rust resistance and latter with stem rust resistance.

A study of this material enabled us to show that the genetic control of the resistance carried by the *Agropyron* chromosomes of TAF 1 and TAF 2 was simple, and furthermore, also to hypothesize a more complex genetic control for stripe rust resistance which was maintained only at the amphiploid level.

It was consequently decided to approach the last problem by means of a new set of disomic addition lines isolated from the derivatives of the cross (TAF 46 × V. 27)^2. (CAUDERON *et al.*, 1973).

Six of the seven disomic addition lines have been isolated, each with the full complement of V. 27 and one different bivalent of *Agropyron*. They also differ in phenotype and in the morphology of the added chromosome or in its mode of transmission.

Only one of them (L_7) displays a good resistance against stripe rust, and this resistance is of the same type as that of the amphiploid TAF 46 which is susceptible at the seedling stage and resistant at the adult stage under field conditions, to all stripe rust races known to occur in France.

It should be borne in mind that the behaviour of this line has remained stable against stripe rust during the past ten years ago and this stability may be very important in view of recent problems caused by the presence of new prevalent races in France.

Only one pair of chromosomes is thought to be involved with this resistance since we have shown that, at least if the V. 27 genotype is present, the loss of the *Agropyron* chromosome is correlated with the loss of the resistance. It may be pointed out that V. 27 is not very susceptible to the present races of stripe rust and that the screening for resistance is not always easy. Since this chromosome is currently being transferred to different wheat genetic backgrounds (« Panonija », « Novi Sad 60 » and « Courtot ») and we hope that in due course we will be able to derive clearer understanding of the problem.

The addition lines L_7 and V. 27 differ from a morphological standpoint and are readily distinguishable. Unfortunately it has not been possible to find other marker genes in addition to stripe rust resistance : all the differences between L_7 and V. 27 are quantitative. As is the case with all the other alien addition lines, L_7 has no immediate practical interest for agriculture because of the additional pair of chromosomes also adversely affect the yield : in one trial the yield was 80 p. 100 of that V. 27. The main differences concern tillering and 1 000 grain weight.

From a cytological point of view, the disomic addition line is chromosomically rather stable, showing generally 22″ at meiosis. Nevertheless a low proportion of aneuploids is recorded in its progeny (CAUDERON *et al.*, 1973).

The necessity of using more sophisticated methods to exploit the resistance (for instance the creation of the specific substitution line or the induction of homeologous pairing) led us to study the mode of transmission of this chromosome in its monosomic condition and to locate the homeologous group.

Cytological analyses have been made to study the mode of transmission (table 1) and it is evident that the additional chromosome of *A. intermedium* carrying resistance is transmitted a little less effectively through the female gamete and a little more effectively through the male gamete than most of the wheat monosomes. However, the differences are not significant. This behaviour is also similar to that of the chromosome involved, in TAF 1 (leaf rust), but it is obviously different with the chromosome of TAF 2 (stem rust) where a selective advantage through the pollen with $n = 22$ was recorded.

TABLE 1

Male and female transmission of Agropyron intermedium *monosomes carrying the genes for resistance to leaf, stem and stripe rusts* (F_2 *and backcrosses to wheat joined*)

Transmission frequencies through	Leaf rust		Stem rust		Stripe rust
	TAF 1	TAF 1 *d* (1)	TAF 2	TAF 2 *d* (1)	L 7
1° Female gamete					
$n = 21$	0,75	0,75	0,75	0,65	0,80
$n = 22$	0,25	0,25	0,25	0,35	0,20
2° Male gamete					
$n = 21$	0,95	0,95	0,15	0,05	0,90
$n = 22$	0,05	0,05	0,85	0,95	0,10

(1) Corresponding ditelosomic addition lines.

The *Agropyron* chromosome involved in the L_7 line is small, with a median centromere, and it is not very different from the 5 BS/7 BS chromosome of V.27 with which it has been compared in one programme of substitution line creation. It never pairs with wheat chromosomes nor with other chromosomes of the other addition lines we obtained. In the monosomic condition it is broken rather frequently at its centromere (about 5 p. 100) table 2.

Amongst the progenies of some of the monotelosomic addition lines, ditelosomic plants have been obtained this year which will enable us to map genes on the arm of the chromosome and also to simplify the screening of substitution lines.

In the F_2 of the cross between « Chinese spring », monosomic for genome D, and the addition line L_7, Y. SAVIDAN, in our laboratory, was able to show a particular behaviour with 5 D chromosome crosses (segregation of the different classes of chromosome numbers different for this one ; any difference of fertility between the plant with 21'' or 20'' + 2'). This result has yet to be completed and confirmed

but as the same time a new event has appeared : the stripe rust susceptibility of some F_2 plants with $2n = 43$ (21″ wheat + 1′ *Agropyron*).

TABLE 2

Segregation observed in the F_2 progenies of a monosomic addition line carrying an Agropyron *monosome for stripe rust resistance*

2n	41 (1)	42	43 (2)	44	42 *t*	43 *t*	43 *i*	44 *t*
NG of plants	1	202	68	6	2	10	1	6
p. 100 of plants	0,34	68,24	22,98	2,02	0,68	3,38	0,34	2,02
		93,58 %				6,42 %		

(1) One plant monosomic
(2) One plant trisomic
} for a wheat chromosome.

This fact allows us to conclude that resistance supplied by the *Agropyron* chromosome in this case is not dominant, at least in the hemizygous condition, in the presence of a susceptible wheat genotype (*f. i.* « Chinese spring »). These conclusions have been confirmed during the current season, as portrayed by the occurrence of stripe rust attacks on several heterozygous types of monosomic addition (« Courtot », « Novi Sad 60 » and with the mutant line Ph 10/13 of « Chinese spring »). These attacks are almost equivalent to that on the corresponding wheat. It appears that genetic control of stripe rust resistance from *A. intermedium* may definitely be more complex than the resistance to leaf and stem rust displayed by the 3 Agi (3A) and 7 Agi (7 D) chromosome of TAF 1 and TAF 2.

Reçu pour publication en juin 1976.

RÉSUMÉ

ESSAI DE TRANSFERT AU BLÉ D'UNE RÉSISTANCE A LA ROUILLE JAUNE ISSUE D'*AGROPYRON INTERMEDIUM*

Cette note rend compte d'une série d'analyses effectuées dans le but de préciser le déterminisme génétique d'une résistance à la Rouille jaune (*Puccinia striiformis* WESTEND.) issue d'*Agropyron intermedium* HOST P. B., et la méthode permettant de transférer les gènes responsables sur les chromosomes du Blé tendre. L'étude a été abordée par le biais d'un amphiploïde partiel TAF 46, $2n = 56$ (21″ Blé + 7″ *Agropyron*) et d'aneuploïdes divers (lignées d'addition monosomique, disomique, ditélosomique) isolés dans sa descendance. Elle a permis de localiser les gènes responsables de la résistance à la Rouille jaune sur la paire de chromosomes d'*Agropyron* présente chez L_7, $2n = 44$ (21″ Blé + 1″ Agi). En addition monosomique le chromosome de la résistance est transmis par 20 p. 100 des gamètes femelles et par 10 p. 100 des gamètes mâles. Des analyses sont en cours qui doivent permettre de déterminer le groupe d'homéologie et la nature de la résistance apportée par l'*Agropyron*.

REFERENCES

CAUDERON Y., 1966. Étude cytogénétique de l'évolution du matériel issu de croisement entre *Triticum aestivum* et *Agropyron intermedium*. *Ann. Amélior. Plantes*, **18**, 43-70.

CAUDERON Y., SAIGNE B., DAUGE M., 1973. The resistance to Wheat rusts of *Agropyron intermedium* and its use in Wheat improvement. *Proc. 4th intern. Wheat Genet. Symp.* Columbia (Missouri), 401-407.

SAVIDAN Y., 1972. *Contribution à l'étude du déterminisme de la résistance à la Rouille jaune issue d'*Agropyron intermedium. Rapport D. E. A. d'Amélioration des Plantes. (Document ronéoté).

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (4), 751-754.

HAPLOÏDES D'*HORDEUM VULGARE* L. PAR CULTURE *IN VITRO* D'OVAIRES NON FÉCONDÉS

Lean Han SAN NOEUM

Laboratoire d'Amélioration des Plantes,
Université Paris-Sud-Orsay, Bâtiment 360,
91405 Orsay (France)

RÉSUMÉ

La culture *in vitro* d'ovaires non fécondés d'*Hordeum vulgare* L., produit directement des plantes haploïdes chlorophylliennes sur les milieux qui contiennent 8 et 12 p. 100 de saccharose. Le milieu de base utilisé est celui qui a été mis au point pour l'androgenèse de Blé tendre avec une concentration de deux millimoles par litre de NH_4NO_3. Les meilleurs résultats sont obtenus avec des ovaires issus de fleurs dont les grains de pollen sont bi- ou trinucléés avant l'anthèse.

C'est la première fois à notre connaissance, qu'on parvient à obtenir des plantes haploïdes d'origine femelle par culture *in vitro* d'ovaires non fécondés de cette espèce et plus généralement d'Angiospermes.

INTRODUCTION

Après les travaux de Guha et Maheswari, 1966, sur l'obtention des plantes haploïdes de *Datura innoxia* par culture d'anthères, les recherches sur ce thème se sont développées très rapidement et avec succès sur de nombreuses autres espèces. Par contre, très peu de travaux portent sur l'induction *in vitro* des divisions des cellules du sac embryonnaire. Rappelons cependant que Tulecke, 1964, a obtenu des tissus haploïdes à partir de gamètes femelles de *Ginkgo biloba* L. et que plus tard Uchimiya *et al.*, 1971, ont observé des divisions de cellules haploïdes d'ovules de *Solanum melongena* et des cals d'ovaires de *Zea mays* (cals constitués par des cellules haploïdes et diploïdes avec des racines diploïdes).

En ce qui concerne l'espèce *Hordeum vulgare* L., les méthodes d'obtention d'haploïdes actuellement étudiées sont les suivantes :

— la culture *in vitro* d'anthères ; les haploïdes d'origine pollinique sont, dans ce cas, très souvent albinos et leur niveau de ploïdie est variable (Clapham, 1973 ; Grunewaldt et Malepszy, 1975 ; Dale, 1976) ;

— l'utilisation du phénomène d'élimination chromosomique dans le croisement interspécifique (*Hordeum vulgare* L. × *Hordeum bulbosum* L.) qui induit la forma-

tion d'embryons haploïdes (Kao et Kasha, 1969 ; Kasha et Kao, 1970 ; Kasha et Sadasivaiah, 1971 ; Jensen, 1973).

Dans cette note, nous montrons la possibilité d'obtenir directement des plantes haploïdes d'*Hordeum vulgare* L. par culture *in vitro* d'ovaires non fécondés.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous avons utilisé une orge de printemps, cultivar « Bérénice », et une orge d'hiver, cultivar « Espe », fournies par le Groupe d'Étude et de Contrôle des Variétés et des Semences (I.N.R.A.). Les plantes ont été cultivées en serre en conditions de jours longs (photopériode : 16 heures, température 27 ± 3°C).

Les épis sont désinfectés à l'hypochlorite de calcium à 5 p. 100 pendant cinq minutes et rincés deux fois à l'eau déminéralisée stérile. Les ovaires entiers sont prélevés en atmosphère stérile et mis en culture sur milieu nutritif gélosé. Le milieu de base employé est celui qui est utilisé pour l'androgenèse de Blé tendre (Picard et de Buyser, 1943 : macroéléments et microéléments de Miller, 10^{-4} M de Fe EDTA, vitamines de Fujii modifiées, 2.10^{-6} de 2,4 D, pH : 5,9 avant l'autoclavage) avec une concentration de NH_4NO_3 ramenée à 2 mM par litre ; les concentrations de sucre utilisées sont de 3,8 et 12 p. 100. Les cultures sont maintenues dans des salles climatisées (27 + 1°C), éclairement 3 000 lux, photopériode 16 heures. Dès leur apparition, les plantules sont repiquées sur le milieu de base dilué de moitié avec 2 p. 100 de saccharose et sans substance de croissance (pH = 6,0 avant passage à l'autoclave). Les comptages chromosomiques sont effectués sur les pointes de racines des plantules avant leur transfert en terre.

RÉSULTATS

Étant donné la difficulté d'appréciation des stades de la gamétogenèse femelle, nous avons classé les ovaires en trois groupes d'après le stade de la gamétogenèse *mâle* qui nous a servi de repère.

— Groupe I (G I) : ovaires provenant de fleurs dont les grains de pollen sont uninucléés ;

— Groupe II (G II) : ovaires provenant de fleurs dont les grains de pollen sont au stade binucléé ;

— Groupe III (G III) : ovaires provenant de fleurs dont les grains de pollen sont trinucléés, mais avant l'anthèse.

Sur tous les milieux utilisés, les ovaires pris au stade G I restent blancs, ne grossissent pas ou grossissent très peu et finissent par se nécroser.

Par contre, les ovaires pris au stade G II et G III augmentent considérablement de taille et verdissent dès le 3e jour de culture puis brunissent au cours de la 4e semaine. C'est à partir d'environ 0,6 p. 100 de ces ovaires et seulement sur les milieux qui contiennent 8 et 12 p. 100 de saccharose que nous avons obtenu des plantules. Nous pouvons rapprocher ces observations de résultats obtenus par Kameya et Hinata, 1970 et Wakijuka et Nakajima, 1974, sur des ovules fécondés cultivés *in vitro* ; ces auteurs ont trouvé qu'une concentration élevée en saccharose dans le milieu nutritif permet, entre autres, d'assurer une pression osmotique favorable au développement *in vitro* de jeunes embryons.

Les plantules sont sorties directement de l'ovaire au bout de 9 à 10 semaines de culture ; deux cas se présentent :

— soit une plantule par ovaire possédant un coléoptile comparable à celui des plantules zygotiques ;

— soit deux plantules par ovaire ; celles-ci ont un coléoptile plus court que précédemment.

Ces plantes possèdent une ou plusieurs racines. Pour favoriser une bonne croissance nous les avons transférées sur le milieu de repiquage dès leur sortie.

Toutes les plantes obtenues sont chlorophylliennes et toutes les métaphases observées dans les pointes de leurs racines ont le nombre haploïde de chromosomes ($n = 7$). Vraisemblablement ces plantes proviennent des proliférations d'une cellule (ou de plusieurs) du sac embryonnaire.

Il est également intéressant de signaler que dans nos conditions d'expérience il n'y a jamais de prolifération des cellules somatiques de la paroi de l'ovaire.

Ces plantes ont été repiquées en pots au stade de 5-7 feuilles et maintenues dans la chambre de culture. Après la reprise, elles sont alors cultivées en serre où leur développement est satisfaisant. Elles ont été clonées et le doublement à la colchicine de l'une d'entre elles a été réussi.

CONCLUSION

C'est la première fois qu'on arrive à obtenir des plantes haploïdes d'origine femelle par culture *in vitro* d'ovaires non fécondés.

Nous avons noté une différence appréciable entre les plantes provenant d'ovules et celles provenant de pollen en culture *in vitro* chez *Hordeum vulgare* L. Par culture d'ovaires, les plantes sont toutes chlorophylliennes et haploïdes. Par culture d'anthères, nous avons obtenu une forte proportion de plantes albinos (3 plantes chlorophylliennes sur 93) (non publié) ; de son côté, CLAPHAM, 1973, a obtenu 25 plantes chlorophylliennes parmi lesquelles 4 sont tétraploïdes, 17 diploïdes, 1 partiellement haploïde et 3 à prédominance haploïde ; GRUNEWALDT et MALEPSZY, 1975, ont obtenu seulement 4 plantes chlorophylliennes dont 3 haploïdes sur environ 1 000 plantes au total. La forte proportion de plantes androgénétiques albinos chez l'Orge limite l'application de cette méthode dans les programmes de sélection de cette espèce.

Par ailleurs, le croisement interspécifique entre *Hordeum vulgare* L. et *Hordeum bulbosum* L. (avec mécanisme d'élimination du génome d'*Hordeum bulbosum* L.) constitue jusqu'à présent l'unique méthode de production en grand nombre d'haploïdes d'orge utilisés en sélection (KASHA, 1974). Ce système de production d'haploïdes est bien meilleur que l'androgenèse du point de vue rendement en plantes utilisables. Cependant, on peut se demander si cette méthode est plus avantageuse que la culture d'ovaires non fécondés. En effet, par croisement interspécifique, l'élimination chromosomique se fait plus ou moins tardivement mais il n'est pas rare d'avoir des mixoploïdes qui ne survivent pas et des hybrides ; KASHA, 1974, a rapporté que JENSEN avait obtenu environ 8 p. 100 d'hybrides. Par conséquent, le contrôle cytologique des plantes obtenues devrait être très rigoureux.

La culture d'ovaires non fécondés paraît être une méthode plus simple et plus sûre que le croisement interspécifique ; les manipulations se réduisent à la culture *in vitro*. Cependant nous rapportons ici des résultats préliminaires dans lesquels le

rendement en haploïdes est faible ; nous espérons pouvoir l'augmenter dans l'avenir.

L'Orge nous semble un matériel de choix pour la comparaison des haploïdes obtenus par différentes voies, maternelles ou paternelles. Notre méthode pourrait être confirmée sur les hybrides et éventuellement sur d'autres espèces, principalement sur celles où l'androgenèse est un échec.

Reçu pour publication en octobre 1976.

REMERCIEMENTS

L'auteur tient à remercier particulièrement E. Picard qui l'a aidée dans le choix du matériel végétal et a suivi son travail avec intérêt et attention.

SUMMARY

NON FERTILIZED OVARIES OF HORDEUM VULGARE L. CULTURED IN VITRO

Haploid chlorophyllian plants were obtained on sterile culture media containing 8 and 12 p. 100 sucrose. The basis medium was the same as used for androgenesis of *Triticum aestivum* except for a lowering of NH_4NO_3 concentration from 12,5 mM to 2 mM per liter. The best results were obtained with ovaries from florets where pollen grains were either binucleate or trinucleate.

This appears to be the first instance when obtaining haploid plants from non-fertilized ovaries cultured *in vitro* has been reported in this species as well as in Angiosperms in general.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Clapham D., 1973. Haploid *Hordeum* plants from anthers *in vitro*. *Z. Pflanzenzucht.*, **9**, 142-155.

Dale P. J., 1975. Pollen dimorphism and anther culture in Barley. *Planta* (Berlin), **127**, 213-220.

Grunewaldt J., Malepszy S., 1975. Beobachtungen an Antherenkallus von *Hordeum vulgare* L. *Z. Pflanzenzucht.*, **75**, 55-61.

Guha S., Maheshwari S. C., 1966. Cell division and differentiation of embryos in the pollen grains of *Datura in vitro*. *Nature*, **212**, 97-98.

Jensen C. J., 1973. Production of monoploids in Barley. *Barley Genet. Newsl.*, **3**, 23-24.

Kameya T., Hinata K., 1970. Test-tube fertilization of excised ovules in *Brassica*. *Japan. J. Breeding*, **20**, 253-260.

Kao K. N., Kasha K. J., 1969. Haploidy from interspecific crosses with tetraploid barley, in *Barley Genetics II*. *Proc. 2nd intern. Barley Genet. Symp.*, Ed. R. A. Nilav, Wash. State Univ. Press., 82-88.

Kasha K. J., 1974. Haploids from somatic cells. in *Hapoids in higher plants. Advances and potential Proceeding of the first international Symposium*, Guelph (Canada). Ed. K. J. Kasha, Guelph., 67-87.

Kasha K. J., Kao K. N., 1970. High frequency haploid production in Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Nature*, **225**, 874-875.

Kasha K. J., Sadasivaiah R. S., 1971. Genome relationships between *Hordeum vulgare* L. and *H. bulbosum* L. *Chromosoma*, **35**, 264-287.

Picard E., de Buyser J., 1973. Obtention de plantes haploïdes de *Triticum aestivum* L. à partir de culture d'anthères *in vitro*. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **277**, série D, 1463-1466.

Tulecke W., 1964. A haploid tissue culture from the female gametophyte of *Ginkgo biloba* L. *Nature*, **203**, 94-95.

Uchimiya H., Kameya T., Takahashi N., 1971. *In vitro* culture of unfertilized ovules in *Solanum melongena* and ovaries in *Zea mays*. *Japan. J. Breed.*, **21**, 5, 247-250.

Wakizuka T., Nakajima T., 1974. Effet of cultural condition on the *in vitro* development of ovules in *Petunia hybrida*, vilm. *Japan. J. Breed.*, **24**, 182-187.

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (4).

TABLE DES MATIÈRES DE L'ANNÉE 1976

P. Auriau, J.-C. Autran, L. Charbonnier, G. Doussinault, P. Feillet, B. Godon, P. Grignac, P. Joudrier, K. Kobrehel, J. Koller, M. Rousset, S. Rivallant. — Variabilité génétique de la composition des gliadines, gluténines, β-amylases, α-estérases, peroxydases et phosphatases acides du Blé (*T. Aestivum*) 51

M. Bernard. — Étude des caractéristiques cytologiques, morphologiques et agronomiques de six lignées d'addition Blé-Seigle..... 67

E. Berninger. — Évolution de la stérilité mâle cytoplasmique dans les populations d'Oignon 549

Ch. Bertin, A. Panouillé, S. Rautou. — Obtention de variétés de Maïs « prolifiques en épis », productives en grain et à large adaptation écologique 387

A. Bervillé, Aïda Labib, H. Thiellement, B. Kouame. — Hétérosis mitochondrial. I. — Résultats préliminaires chez un hybride simple de maïs 607

F. Blondon, A. Gallais. — Influence de la température, de la valeur de l'éclairement et de la photopériode sur le développement floral de quatre génotypes de maïs 195

A. Bourdet, Renée Berrier, J.-C. Autran. — Appréciation de la force des blés tendres en sélection précoce. Étude comparée de différents tests miniaturisés..... 265

C. Brian, Micheline Imbernon, J. Guinberteau. — Variations phénotypiques chez une souche commerciale d'*Agaricus bisporus* L..... 455

C. Brian, Micheline Imbernon, J. Guinberteau. — La génétique du champignon de couche, *Agaricus bisporus* L..... 465

A. Cadic, L. Decourtye. — Observations préliminaires concernant la biologie florale et la génétique du Berberis : conséquences pour la sélection..... 295

A. Carbonneau. — Principes et méthodes de mesure de la surface foliaire. Essai de caractérisation des types de feuilles dans le genre *Vitis*..... 327

Yvonne Cauderon, J.-M. Rhind. — The effect on Wheat of an *Agropyron* chromosome carrying strips rust resistance (Essai de transfert au Blé d'une résistance à la Rouille jaune issue d'*Agropyron intermedium*).... 745

H. Clanet, J.-C. Salles. — Étude de l'action de l'acide gibbérellique sur le développement des ébauches florales chez le Pêcher : conséquences pratiques 285

M. Clerjeau, H. Laterrot. — Méthode de sélection de la Tomate au stade plantule pour la résistance à *Pyrenochaeta lycopersici*..... 319

R. COUSIN. — Amélioration génétique du Pois d'hiver 235
Yvette DATTÉE. — Analyse quantitative de l'auto et de l'interfertilité chez la Luzerne diploïde 419
Y. DEMARLY. — La notion de programme génétique chez les végétaux supérieurs. I. — Aspects théoriques 117
Claire DORÉ. — Doublement du stock chromosomique d'haploïdes d'asperge (*Asparagus officinalis* L.) par culture *in vitro* des méristèmes en présence de colchicine 647
H. DULIEU, M. A. DALEBROUX. — Composantes de variabilité et interactions fonctionnelles aux loci a_1^+-a_1 et a_2^+-a_2 de *Nicotiana tabacum* L. 569
H. FEYT. — Proposition d'un modèle de simulation appliqué à la génétique des caractères quantitatifs 157
H. FEYT. — Étude critique de l'analyse des croisements diallèles au moyen de la simulation 173
H. FEYT, G. PELLETIER. — Haploïdie et sélection. Évolution des probabilités des génotypes haploïdes tirés d'une population diploïde illimitée soumise à des cycles d'autofécondation et de sélection 365
G. FOUILLOUX. — L'anthracnose du haricot (*Colletotrichum lindemuthianum* SACC. MAGN.) nouvelles sources de résistance et nouvelles races physiologiques 443
P. F. GALICHET, S. POITOUT, T. F. LOMA. — Étude préliminaire sur le comportement de la Pyrale du Riz, *Chilo suppressalis* WLK, vis-à-vis de trois variétés de Riz cultivées en France 93
A. GALLAIS. — Sur la signification de l'aptitude générale à la combinaison .. 1
A. GALLAIS, M. POLLACSEK, L. HUGUET. — Possibilités de sélection du Maïs en tant que plante fourragère 591
A. GALLAIS. — Development and application of prediction formulae for synthetics (Développement et application de formules de prévision de la valeur des variétés synthétiques) 623
A. GALLAIS. — The use of heterosis in autotetraploid cross-fertilized plants with some applications to Lucerne and Cocksfoot (L'utilisation de l'hétérosis chez les plantes allogames autotétraploïdes avec quelques applications relatives à la Luzerne et au Dactyle) 639
J. GASGUEZ, J.-P. COMPOINT. — Apport de l'électrophorèse en courant pulsé à la taxonomie d'*Echinochloa crus galli* (L.) PB 345
M. GILLET. — Étude de la mise à fleur de quelques graminées fourragères ... 629
Ch. GRASSELLY, G. OLIVIER. — Mise en évidence de quelques types autocompatibles parmi les cultivars d'Amandier (*P. amygdalus* BATSCH) de la population des Pouilles 107
P. GUY. — Déterminisme génétique de la résistance à *Colletotrichum trifolii* chez *Medicago sativa* L. 215
H. LATERROT. — Localisation chromosomique de I_2 chez la Tomate contrôlant la résistance au pathotype 2 de *Fusarium oxysporum F. Lycopersici* ... 485
H. LATERROT. — Utilisation conjointe de la stérilité mâle et de la résistance au virus de la Mosaïque du Tabac chez la Tomate 517

F. Le Cochec, P. Soreau. — Analyse de deux essais d'uniformité de Betterave fourragère (*Beta vulgaris* L.) 473
P. L. Lefort. — Contribution à l'analyse des systèmes génétiques chez le Cotonnier 15
J.-P. Ley, M. Monget, Lucette Thévenin. — L'amélioration de l'Asperge (*Asparagus officinalis* L.) : application conjointe de méthodes statistiques descriptives et inférentielles à l'utilisation raisonnée des différences de production entre plantes mâles et femelles 675
D. Maizonnier. — Production de tétraploïdes et de trisomiques naturels chez le Pétunia 305
B. Monties, Marie-Thérèse Chesneaux, C. Hutin. — Caractérisation des cultivars à l'aide de différences quantitatives de teneur en composés polyphénoliques : application au Maïs et à l'Œillet 495
J. Picard. — Aperçu sur l'hérédité du caractère absence de tanins dans les graines de Féverole (*Vicia faba* L.) 101
C. Planchon. — Essai de détermination de critères physiologiques en vue de l'amélioration du Blé tendre : les facteurs de la photosynthèse de la dernière feuille 717
E. Pochard, M. Clerjeau, M. Pitrat. — La résistance du Piment, *Capsicum annuum* L. à *Phytophthora capsici* leon. I. — Mise en évidence d'une induction progressive de la résistance 35
P. Rotili, L. Zannone, P. Jacquard. — Effects of association on the evaluation of Lucerne populations (Effets de l'association sur l'évaluation de populations de Luzerne) 139
Lean Han San Noeum. — Haploïdes d'*Hordeum vulgare* L. par culture *in vitro* d'ovaires non fécondés 751
Monique Sibi. — La notion de programme génétique chez les végétaux supérieurs. II. — Aspect expérimental. Obtention de variants par culture de tissus *in vitro* sur *Lactuca sativa* L. Apparition de vigueur chez les croisements 523
Indra Sen Singh. — Stérilité induite chez le Pétunia. Corrélation entre les fertilités pollinique et ovulaire 279
Indra Sen Singh, A. Cornu. — Recherche de plantes haploïdes de Pétunia à noyau androgénétique et à cytoplasme gynogénétique déterminant la stérilité pollinique 565
Indra Sen Singh, H. Dulieu. — Effets géniques et variabilité génétique pour plusieurs caractères chez un mutant monohybride de *Nicotiana tabacum* L. 579
Lucette Thévenin, Claire Doré. — L'amélioration de l'Asperge (*Asparagus officinalis* L.) et son atout majeur, la culture *in vitro* 655

Note :

Cl. Marenaud, G. Llager. — Étude de la diffusion de virus de type ILAR (taches annulaires nécrotiques) dans un verger de Cerisier (*Prunus avium*) 357
Chroniques des livres 115
Informations 493

CONTENTS, VOL 26, 1976

P. Auriau, J.-C. Autran, L. Charbonnier, G. Doussinault, P. Feillet, B. Godon, P. Grignac, P. Joudrier, K. Kobrehel, J. Koller, M. Rousset, S. Rivallant. — Genetic variability of gliadins, glutenins β-amylases, α-esterases, peroxidases, acid phosphatases composition in Wheat (*T. aestivum*) 51

M. Bernard. — Study of cytological, morphological and agrotechnical characteristics of six Wheat-Rye addition lines..... 67

E. Berninger. — Evolution of the frequencies of male sterility factors in onion populations 549

Ch. Bertin, A. Panouillé, S. Rautou. — Development of varieties of maize-grain with ear prolificacy for wide ecological adaptation..... 387

A. Bervillé, Aïda Labib, H. Thiellement, B. Kouame. — Mitochondrial heterosis : preliminary results in a single cross hybrid of Corn..... 607

F. Blondon, A. Gallais. — The effect of temperature, level of lighting and photoperiod on the floral development of four genotypes of Maize..... 195

A. Bourdet, Renée Berrier, J.-C. Autran. — Strength estimation in early generation of Wheat. Comparative study of small scale tests..... 265

C. Brian, Micheline Imbernon, J. Guinberteau. — Phenotypical variations in a commercial, strain of *Agaricus bisporus* L..... 455

C. Brian, Micheline Imbernon, J. Guinberteau. — Genetics of the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus* L..... 465

A. Cadic, L. Decourtye. — Preliminary results on floral biology and genetics of Barberry : breeding consequences..... 295

A. Carbonneau. — Principles and methods for measuring leaf area. Attempt to define the various types of leaves in *Vitis* genus..... 327

Yvonne Cauderon, J.-M. Rhind. — The effect on Wheat of an *Agropyron* chromosome carrying stripe rust resistance..... 745

H. Clanet, J.-C. Salles. — Study of the action of gibberellic acid on the development of flower primorida in peach-tree : practical consequences. 285

M. Clerjeau, H. Laterrot. — A method for screening Tomato seddlings resistant to *Pyrenochaeta lycopersici*..... 319

R. Cousin. — Genetic improvement of winter Pea..... 235

Yvette Dattée. — Quantitative analysis of self and cross fertility of diploid Alfalfa 419

Y. Demarly. — Genetic program in higher plants. Theoretical aspects..... 117

Claire Doré. — Chromosome doubling of Asparagus (*Asparagus officinalis*) haploids by *in vitro* culture of colchicine treated meristems..... 647

H. Dulieu, M. A. Dalebroux. — Variability components and functional interactions at the $a\frac{1}{1}$-a_1 and $a\frac{1}{2}$-a_2 loci of *Nicotiana tabacum* L..... 569

H. FEYT. — Proposal for a computer simulation model applied to quantitative characters 157
H. FEYT. — A critical study of diallel methods by computer simulation..... 173
H. FEYT, C. PELLETIER. — Haploidy and selection. Probabilities evolution of haploid genotypes out of infinite diploid population under selfing and selection cycles..... 365
G. FOUILLOUX. — Bean anthracnose (*Collectotrichum lindemuthianum* SACC. MAGN.) : new sources of resistance and new pathotypes 443
P. F. GALICHET, S. POITOUT, T. F. LOMA. — Preliminary study on behaviour of *Chilo suppressalis* WLK. towards three varieties of Rice cultivated in France 93
A. GALLAIS. — On the meaning of the general combining ability..... 1
A. GALLAIS, M. POLLACSEK, L. HUGUET. — Possibilities for breeding Maize as a forage plant..... 591
A. GALLAIS. — Development and application of prediction formulae for synthetics 623
A. GALLAIS. — The use of heterosis in autotetraploid cross-fertilized plants with some applications to Lucerne and Cocksfoot 639
J. GASQUEZ, J.-P. COMPOINT. — Contribution of electrophoresis with pulsed power supply to the taxonomy of *Echinochloa crus galli* (L.) PB. 345
M. GILLET. — Study of the flowering process of some forage grasses..... 629
Ch. GRASSELY, G. OLIVIER. — Demonstration of some self-compatible types amongst the Almond tree cultivars (*P. Amygdalus* BATSCH) of the Apulian population 107
P. GUY. — Genetic control of tolerance to *Colletotrichum trifolii* in *Medicago sativa* L. 215
H. LATERROT. — Mapping of I_2 in Tomato, controlling the resistance to pathotype 2 of *Fusarium oxysporum* F. *lycopersici*..... 485
H. LATERROT. — Simultaneous use of male-sterility with the Tobacco Mosaic Virus resistance in Tomato..... 517
F. LE COCHEC, P. SOREAU. — Analysis of two uniformity trials on Fodder beet (*Beta vulgaris* L.) 473
P. L. LEFORT. — Contribution to the analysis of the Cotton plant's genetic systems 15
J.-P. LEY, M. MONGET, Lucette THÉVENIN. — Asparagus improvement : jointed application of descriptive and inferential statistical methods to the reasoned use of production differences between male and female plants. 675
D. MAIZONNIER. — Production of natural tetraploids and trisomics in *Petunia hybrida* 305
B. MONTIES, Marie-Thérèse CHESNEAUX, C. HUTIN. — The characterization of cultivars by means of quantitative differences in their contents of polyphenolic compounds : application to Corn and Carnation 495
J. PICARD. — Survey of the inheritance of absence of tanin in Field Bean seeds 101

C. Planchon. — Attempt to determine physiological criteria for the improvement of soft Wheat : factors of the flag leaf photosynthesis 717

E. Pochard, M. Clerjeau, M. Pitrat. — Resistance of the Pepper, *Capsicum annuum* L. to *Phytophthora capsici*. I. — Evidence for a progressive induction in the stem of the plants 35

P. Rotili, L. Zannone, J. Jacquard. — Effects of association on the evaluation of Lucerne populations 139

Lean Han San Noeum. — Non fertilized ovaries of *Hordeum vulgare* L. cultured *in vitro* 751

Monique Sibi. — Genetic program in higher plants. II. — Experimental aspect. Production of variants by *in vitro* tissue culture of *Lactuca sativa* L. Increase in vigor in out crosses 523

Indra Sen Singh. — Induced sterility in Petunia. Correlation between pollen and ovule fertilities 279

Indra Sen Singh, A. Cornu. — Research of androgenetic Petunia haploids with gynogenetic cytoplasmic pollen sterility 565

Indra Sen Singh, H. Dulieu. — Genic effects and genetic variability for several characters in a monohybrid mutant of *Nicotiana tabacum* L. .. 579

Lucette Thévenin, Claire Doré. — Asparagus improvement and its chief asset : *in vitro* culture 655

Note :

Cl. Marenaud, C. Llager. — Study of the propagation of Isometric Labile Ring Spot viruses in a Cherry orchard (*Prunus avium*) 357

Books reviews 115

Informations 493

Ann. Amélior. Plantes, 1976, **26** (4).

CONTENTS

B. Monties, Marie-Thérèse Chesneaux, C. Hutin. — The characterization of cultivars by means of quantitative differences in their contents of polyphenolic compounds : application to Corn and Carnation 495

H. Laterrot. — Simultaneous use of male-sterility with the Tobacco Mosaic Virus resistance in Tomato 517

Monique Sibi. — Genetic program in higher plants. II. — Experimental aspect. Production of variants by *in vitro* tissue culture of *Lactuca sativa* L. Increase in vigor in out crosses 523

E. Berninger. — Evolution of the frequencies of male sterility factors in Onion populations 549

Indra Sen Singh, A. Cornu. — Research of androgenetic Petunia haploids with gynogenetic cytoplasmic pollen sterility 565

H. Dulieu, M. A. Dalebroux. — Variability components and functional interactions at the a^+-a_1 and a^+_2-a_2 loci of *Nicotiana tabacum* L. 569

Indra Sen Singh, H. Dulieu. — Genic effects and genetic variability for several characters in a monohybrid mutant of *Nicotiana tabacum* L. 579

A. Gallais, M. Pollacsek, L. Huguet. — Possibilities for breeding Maize as a forage plant 591

A. Bervillé, Aïda Labib, H. Thiellement, B. Kouame. — Mitochondrial heterosis. I. — preliminary results in a single cross hybrid of Corn 607

A. Gallais. — Development and application of prediction formulae for synthetics 623

M. Gillet. — Study of the flowering process of some forage grasses 629

A. Gallais. — The use of heterosis in autotetraploid cross-fertilized plants with some applications to Lucerne and Cocksfoot 639

Claire Doré. — Chromosome doubling of Asparagus (*Asparagus officinalis*) haploids by *in vitro* culture of colchicine treated meristems 647

Lucette Thévenin, Claire Doré. — Asparagus improvement and its chief asset : *in vitro* culture 655

J.-P. Ley, M. Monget, Lucette Thévenin. — Asparagus improvement : jointed application of descriptive and inferential statistical methods to the reasoned use of production differences between male and female plants 675

C. Planchon. — Attempt to determine physiological criteria for the improvement of soft Wheat : factors of the flag leaf photosynthesis 717

Yvonne Cauderon, J.-M. Rhind. — The effect on Wheat of an *Agropyron* chromosome carrying stripe rust resistance 745

Lean Han San Noeum. — Non fertilized ovaries of *Hordeum vulgare* L. cultured *in vitro* .. 751

RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Le manuscrit doit être dactylographié sur papier format 21 × 29,7, avec un double interligne, au recto seulement. Chaque page sera numérotée et des feuilles *séparées* seront utilisées pour les références bibliographiques, les tableaux, les légendes des figures et graphiques, etc.

Au début de chaque mémoire, on indiquera : — *le titre du mémoire ;* il ne devra pas comporter d'abréviations ni de formules chimiques (sauf pour les isotopes) ; — *le nom des auteurs,* précédé des initiales du prénom pour les hommes, du prénom complet pour les femmes ; — *le nom des techniciens* ayant collaboré à l'étude relatée, précédé de la mention : avec la collaboration technique de... ; *le nom de l'établissement,* dans lequel ont été effectuées les recherches et son adresse.

Les mémoires seront rédigés, autant que possible, d'après le plan ci-dessous :
a) *résumé* (250 mots max.) suffisamment précis pour que sa lecture renseigne sur la nature du travail et son importance ; b) *introduction* dans laquelle on indique l'objet des recherches entreprises en relation avec les travaux déjà effectués dans le domaine ; c) *techniques expérimentales et matériel utilisé,* en donnant, sous une forme concise, tous les détails nécessaires pour que le lecteur puisse répéter les expériences ; d) *résultats,* à présenter de la manière la plus brève possible ; e) *discussion* et *conclusion ;* f) *titre et résumé* en anglais ou destiné à être traduit en anglais comportant une analyse *complète* de l'article ; g) *remerciements* pour les collaborations, les fonds, les dons... ; h) *références bibliographiques.*

Les travaux originaux en anglais doivent présenter la même composition que les mémoires rédigés en français, mais ils comportent obligatoirement un résumé français *très complet.* Les figures, graphiques, tableaux et photographies seront sous-titrés en français.

Pour les autres documents (notes, mises au point, revues, rapports, etc.), l'auteur devra suivre un plan logique et le mettre en évidence par une titration appropriée.

Les références bibliographiques doivent être citées dans le texte de la manière suivante : (Dupont et Duval, 1954). Lorsque la référence comporte plus de trois auteurs, seul le premier sera mentionné, suivi de *et al.* A la fin de l'article, les références constituant la bibliographie doivent être citées par ordre alphabétique des noms d'auteurs, et par ordre de dates pour un même auteur.

Pour les articles : le (s) nom (s) de (s) auteur (s) suivi (s) des initiales du (des) prénom (s) ; la date de parution de l'article ; le titre de l'article (dans la langue originale pour l'allemand, l'anglais, l'italien, l'espagnol et en français dans tous les autres cas, avec indication entre parenthèses de la langue d'origine, sauf si l'auteur étranger a sous-titré dans l'une des quatre langues mentionnées) : le titre du périodique en abrégé, selon la *World List of Scientific Periodicals,* ou le *Bulletin Signalétique du C. N. R. S. ;* le volume, la première et la dernière page de l'article.

Pour les ouvrages : le nom de l'auteur avec les initiales du prénom ; la date de l'édition ; le titre complet de l'ouvrage dans la langue originale, sans abréviations (pour les langues utilisant des alphabets autres que l'alphabet latin, la traduction du titre sera donnée entre parenthèses, avec mention de la langue d'origine) ; le volume ; la première et la dernière page du paragraphe se rapportant aux résultats discutés, et, si l'on cite l'ouvrage en entier, le nombre de volumes et le nombre total de pages ; le numéro de l'édition s'il y en a plusieurs ; le nom de l'éditeur ; le lieu de l'édition. Si l'ouvrage est collectif, on indiquera en plus le nom de l'auteur du chapitre cité, le nom des rédacteurs principaux, précédé de la mention « in », le titre de l'ouvrage.

La mention de « communications personnelles » ou « données non publiées » etc. doit être faite entre parenthèses. Lorsque l'auteur a relevé une référence dans une revue d'« Abstracts », le mentionner à la fin de la référence, entre parenthèses.

Les tableaux, dessins, graphiques, cartes, photographies, doivent être fournis à part. Les tableaux et figures doivent faire l'objet de deux numérotations distinctes, en chiffres arabes l'une et l'autre.

Les auteurs peuvent disposer leurs tableaux soit dans le sens de la largeur de la revue, soit dans le sens de la longueur. Dans le sens de la largeur, le total des signes et des espaces disponibles est de 100. Dans le sens de la longueur, il est de 155. Les tableaux en longueur, c'est-à-dire ceux pouvant disposer de 155 signes, ne seront admis que s'ils comprennent plus de 8 lignes de chiffres, de manière qu'une page entière de la revue ne soit pas occupée par un tableau très long et très étroit. Les graphiques ne doivent pas faire double emploi avec les tableaux.

Les légendes et les énoncés des graphiques et dessins doivent être dactylographiés sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

Les graphiques, schémas, cartes, dessins d'appareils seront envoyés soit *à l'état définitif* soit *à l'état de projets,* leur exécution définitive étant confiée au Bureau de Dessin de l'I. N. R. A. Seules deux réductions à l'impression sont admises : *soit* × 0,5, *soit* × 0,25.

Il est rappelé que le format utile des *Annales* est : 12,5 × 19 cm ; ces dimensions ne doivent pas être dépassées.

Photographies : Il est recommandé de fournir des épreuves bien contrastées sur papier blanc, et de préférence en format 9 × 12. Si les photographies doivent être associées pour constituer des planches, on adoptera les normes suivantes : 2 photos : 9 × 12 ; 4 photos : 9 × 5,5 ; 6 photos : 5,5 × 5,5. Dans ce cas, chaque photo devra porter un numéro en chiffres arabes visible après clichage.

Les légendes des photographies doivent être dactylographiées sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

Il est demandé d'indiquer sur le manuscrit, dans la marge, en regard du texte, l'emplacement souhaité des tableaux et figures.

Envoi du manuscrit : M. Rives ; Centre de Recherches de Bordeaux, 33140 Pont de la Maye, France. On demande deux exemplaires.

Correction des épreuves : les épreuves que les auteurs recevront à corriger sont à retourner, après correction, à cette même adresse.

Le Directeur de la publication : M.-L. CAGNAC

Imprimerie Bussière à Saint-Amand (Cher), France. — 1-1977

Dépôt légal : 1er trimestre 1977. N° d'impression : 1815

CPPAP n° 26633